

ZIRKULIERENDE IMMUNKOMPLEXE
BEI PATIENTEN MIT MALIGNEN MELANOMEN
SOWIE BEI PATIENTEN
VOR UND NACH VASEKTOMIE

MAXIMILIAN FASCHINGBAUER

1982

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 2014774

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Zirkulierende Immunkomplexe bei Patienten mit malignen
Melanomen sowie bei Patienten vor und nach Vasektomie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwuerde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universitaet zu Muenchen

vorgelegt von
Maximilian Faschingbauer

aus Essen

München 1982

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. B.-R. Balda
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 2. 1982



MEINEN ELTERN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0016

INHALTSUEBERSICHT

	Seite
1. EINLEITUNG	5
2. MATERIAL UND METHODEN	9
2.1. Patienten	9
2.2. 125J-C1q-Ablenkungstest zur Bestimmung von Immunkomplexen	10
2.2.1. Prinzip des Tests, Berechnung der Ergebnisse	10
2.2.2. Praeparation von C1q aus Humanserum	11
2.2.3. Radiojodierung von C1q	13
2.2.4. Herstellung der Pufferloesungen	14
2.2.5. Herstellung der EA-Zellen	15
2.2.6. Ablauf des C1q-Ablenkungstests	16

3.	ERGEBNISSE	Seite
3.1.	Immunkomplexe bei 104 Seren von Patienten der Dermatologischen Universitätsklinik in Muenchen	18
3.2.	Immunkomplexe bei Vasektomie	21
3.3.	Immunkomplexe bei malignen Melanomen	24
3.3.1.	Ergebnisse des 125J-C1q-Ablenkungstests bei Patienten mit malignen Melanomen	25
3.3.2.	Ergebnisse des 125J-C1q-Ablenkungstests bei Patienten mit primär knotigen Melanomen	27
3.3.3.	Ergebnisse des 125J-C1q-Ablenkungstests bei Patienten mit oberflächlich spreitenden Melanomen	28
3.3.4.	Ergebnisse des 125J-C1q-Ablenkungstests bei Patienten mit Lentigo-maligna-Melanomen	29
3.4.	Immunkomplexe bei Naevus Sutton	29
3.5.	Gegenueberstellung der Ergebnisse bei primär knotigen Melanomen und oberflächlich spreitenden Melanomen	30
3.6.	Immunkomplexe bei Patienten mit Melanomen mit Metastasen	31
3.7.	Gegenueberstellung von Immunkomplextiter und histologischer Eindringtiefe der Melanome	32
3.8.	Beziehungen von Immunkomplexen und BKS	34
3.9.	Beziehung zwischen 125J-C1q-Ableitung bei malignen Melanomen und dem Melanomantikörper-titer	35
3.9.1.	Beziehung zwischen 125J-C1q-Ablenkung bei primär knotigen Melanomen und dem Melanomantikörper-titer	36
3.9.2.	Beziehung zwischen 125J-C1q-Ablenkung bei oberflächlich spreitenden Melanomen und dem Melanomantikörper-titer	37
3.10.	Verlaufskontrolle bei 5 Patienten mit malignen Melanomen	38

4.	DISKUSSION	Seite
4.1.	Kritischer Vergleich der Methoden zum Nachweis von löslichen Immunkomplexen im Serum	45
4.1.1.	Nicht antigenspezifische Methoden	46
4.1.1.1.	Physikalisch-chemische Methoden	47
4.1.1.2.	Nicht antigenspezifische, biologische Methoden	48
4.1.3.	Spezifische Bestimmungsmethoden	50
4.1.4.	Probleme des Nachweises zirkulierender Immunkomplexe	51
4.1.4.1.	Heterogenität	51
4.1.4.2.	Standardisierung	51
4.1.5.	Der 125J-C1q-Ablenkungstest	52
4.2.	Zusammensetzung von Immunkomplexen und ihre Bedeutung für die Pathogenität	52
4.3.	Ursachen für die Entstehung und Persistenz von zirku- lierenden Immunkomplexen	53
4.4.	Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen bei Erkrankungen	54
4.5.	Mögliche Bedeutung von zirkulierenden Immunkomplexen bei malignen Melanomen	55
4.6.	Mögliche Bedeutung von zirkulierenden Immunkomplexen beim Naevus Sutton	57
4.7.	Mögliche Bedeutung von zirkulierenden Immunkomplexen bei Vasektomie	58
4.8.	Schlussbetrachtung	59
5.	ZUSAMMENFASSUNG	60
6.	LITERATURANGABEN	62

1. EINLEITUNG

In den letzten Jahren erschienen mehrere Publikationen, die sich mit dem Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen bei zahlreichen Erkrankungen beschaeftigten. So wurden z.B. bei folgenden Erkrankungen bzw. Krankheitsgruppen zirkulierende Immunkomplexe gehaeuft gefunden:

- bei dermatologischen Erkrankungen,
 - Psoriasis vulgaris (11)
 - Lupus Erythematoses (systemisch) (109,76,63,112,113)
 - Vasculitis allergica (130)
- bei Erkrankungen mit Autoimmuncharakter,
 - Rheumatoide Arthritis (58,69,147,54)
 - Spondylitis ankylosans (40,81)
- bei Erkrankungen mit letztlich noch unklarer Aetiologie, in deren Zusammenhang Autoimmunphaenomene diskutiert werden,
 - Colitis ulcerosa (62)
 - Morbus Crohn (104)
 - Multiple Sklerose (144)
 - Morbus Behcet (87,82)
- bei Infektionserkrankungen,
 - Mononukleose (18)
 - Virushepatitis (139,27,65)
- bei Neoplasien,
 - Malignen Lymphomen (140,59,24,151,60)
 - Bronchialkarzinom (56)
 - Retinoblastom (22)
 - Neuroblastom (10)
 - Akute lymphatisch Leukaemie (24)
 - Sarkomen (148)

Wesemann wies bei Patienten nach Vasektomie und auch im Tierversuch ein vermehrtes Vorkommen von zirkulierenden Anti-Sperma-Antikoerpern nach und brachte sie mit dem vermehrten Auftreten von Atherosklerose bei den so behandelten Patienten und Tieren in Verbindung (159).

In den 50-ger Jahren gelang der Nachweis von tumorspezifischen Antikoerpern durch Foley (177), Prehn (190) und Moeller (188). Sie beobachteten, dass der Traeger (Wirt) unter bestimmten Bedingungen gegen den Tumor gerichtete immunologische Abwehrmechanismen mobilisieren kann (185).

Klinische Beobachtungen von gelegentlichen Spontanremissionen bei Patienten mit malignen Melanomen oder der ueberdurchschnittlich haeufigen Tumorentstehung bei Personen mit angeborenen oder erworbenen Immunmangelzustanden (z. B. Teleangiectasia ataxia hereditaria, neonatale Thymektomie) stuetzten diese Ergebnisse. Auch die Beeintraehtigung der Immunantwort durch Antilymphozyten-Serumfaktoren und nicht zuletzt die Abstossung einer kleinen Zahl von transplantierten Tumorzellen in genetisch einheitlichen Wirten wiesen in diese Richtung (176,185,187,99,189).

Es kann heute als gesichert angesehen werden, dass maligne Zellen Immunreaktionen auslösen können, d. h. immunogen sind. Durch Veränderungen in ihrer Oberflächensstruktur können die Tumorzellen sich der Wachstumssteuerung in ihrem Verband entziehen und ein destruktives und invasives Verhalten entwickeln. Wegen dieser Veränderungen unterscheiden sie sich auch von ihren Vorläuferzellen und erscheinen dem Immunsystem als körperfremd. Dadurch wird eine Immunantwort gegen die an der Zelloberfläche gelegenen Antigene ausgelöst. Diese werden, solange ihre immunogene Eigenschaften noch nicht näher charakterisiert sind, als tumorassoziierte Oberflächantigene bezeichnet (61). Intrazelluläre, wenngleich ebenfalls tumorassoziierte Antigene scheinen für das immunologische Erkennungssystem - insbesondere bei intakten Zellmembranen - dagegen nur eine geringe Bedeutung zu haben (174,185,187).

Bis heute sind folgende Abwehrmechanismen im Warmblüterorganismus, die sich gegen Bakterien, Viren oder Tumorzellen richten, genauer untersucht worden (184,199).

	Unspezifisch	Spezifisch
Humorale Faktoren	Komplement	Immunglobuline (Antikörper)
	Properidin	IgG, IgM, IgA, IgD, IgE;
	Opsonine	B-Lymphozyten
	Lysozym	
	Interferon	
Zelluläre Faktoren	Makrophagen	T-Lymphozyten
	Polymorphkernige Granulozyten	Lymphokinine (Migrationshemmungsfaktor, Transferfaktor)

In der ersten Phase tumorimmunologischer Untersuchungen überwog die Ansicht, dass die zelluläre Immunantwort der primäre "host-defence"-Mechanismus gegenüber soliden Tumoren sei. Erst neuere Arbeiten über zytotoxische Antikörper (173,175,198), über nichtblockierende Antikörper (172) und über Lymphozytenabhängige Antikörper (201) im Serum zeigten, dass möglicherweise bei der Tumoralabwehr auch der humoralen Komponente eine entscheidende Rolle zukommt. Es ist jedoch noch ungewiss, inwieweit diese immunologischen Reaktionen eine Hemmung des Tumorstwachstums bzw. die vollständige Vernichtung neoplastischer Zellen herbeiführen können.

Seit der Entdeckung des "Enhancement-Phaenomens" ist bekannt, dass Immunreaktionen nicht nur vorteilhaft fuer den Organismus sein muessen, sondern unter Umstaenden die Ausbreitung malignen Gewebes beguenstigen koennen (183).

(Als "Enhancement-Phaenomen" wird folgender experimenteller Befund bezeichnet: Transplantierte Mausetumoren wachsen besser ("enhanced") und werden seltener abgestossen, wenn dem Tier nach einem bestimmten Schema Antikoerper appliziert werden, die gegen den Tumor gerichtet sind, oder, wenn das Tier durch abgetoetetes Tumorgewebe immunisiert wird).

I. und K. Hellstroem machten als erste bei malignen Melanomen auf diesen unerwuenschten Immuneffekt durch blockierende Faktoren aufmerksam (179/180). Zwar hatten sie anfangs sogenannte "blockierende" Antikoerper dafuer verantwortlich gemacht, jedoch wurde inzwischen nachgewiesen, dass zirkulierende Antigen-Anti-koerperkomplexe und/oder zierkulierendes loesliches Antigen diese Blockade verursachen (61,193).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Seren von Patienten mit malignen Melanomen auf das Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen untersucht.

Bei 5 Patienten wurden im Hinblick auf eine laengerfristige Therapiekontrolle im Anschluss an die primaer operative Versorgung noch ueber einen Zeitraum von zwei Monaten die Seren auf das Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen und deren quantitative Veraenderung nach erfolgtem Eingriff beobachtet. Es sollten so moegliche Beziehungen zwischen dem Verhalten der Immunkomplexe und der Pro- bzw. Regression der Krankheit aufgedeckt werden (187).

In einer anderen Arbeit (Nachweis tumorassoziierter humoraler Antikoerper bei Patienten mit Melanom, Halonaevus und Vitiligo)(36) untersuchte G. Eberle zum Teil die selben Patienten mit der Methode der indirekten Immunfluoreszenz. Er bestimmte bei 31 Seren von Patienten mit histologisch gesicherten Melanomen (Level II - Level V) die Antikoerper gegen Melanomzellen. Es wurden Gefrierschnitte der exzidierten Melanome mit dem Serum der Patienten in verschiedenen Verduennungen (1 : 20, 1 : 40, 1 : 60, 1 : 80, usw.) inkubiert. Die so entstandenen Antigen-Antikoerperkomplexe wurden dann mit fluorochrom-markierten Anti-Antikoerpern (Anti-IgG) erneut inkubiert und unter dem Fluoreszenzmikroskop die Fluoreszenz beurteilt. Es konnte so beurteilt werden, ab welcher Serumverduennung die erste Fluoreszenz auftrat (= Titer).

Auch fuehrte Eberle mit seiner Methode an den selben Patienten Verlaufskontrollen durch, so dass der Vergleich unserer Ergebnisse interessant erschien.

In den Seren von zwei Patienten mit Naevus Sutton wurden zirkulierende Immunkomplexe bestimmt. Da aus klinischen Beobachtungen Zusammenhaenge immunologischer Art zwischen Naevus Sutton und malignen Melanomen naheliegen, koennte es sich beim Sutton Naevus um die selten bekanntgewordenen Faelle einer erfolgreichen Tumorabwehr handeln (171,197,186,195,196).

Ausserdem wurden in Seren von Patienten nach Vasektomie das Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen bestimmt. In einer neueren Arbeit wird ein Zusammenhang zwischen Immunkomplexen und Atherosklerose vermutet.

Aus den verschiedenen Methoden zur Bestimmung von zirkulierenden Immunkomplexen wurde der C1q-Ablenkungstest, in enger Anlehnung an die Originalmethode nach Sobel, Bokish und Mueller-Eberhard ausgewaehlt (137). Untersucht wurden nur Seren von Patienten der Dermatologischen Universitaetsklinik in Muenchen.

Im einzelnen liegen dieser Arbeit folgende Fragestellungen zugrunde:

- a) lassen sich bei malignen Melanomen im Serum der Patienten gehaeuft zirkulierende Immunkomplexe nachweisen?
- b) laesst sich bei den Verlaufskontrollen von Patienten mit malignen Melanomen ein Zusammenhang zwischen dem Verhalten der Immunkomplexe im Serum und dem Verlauf der Krankheit vermuten?
- c) bei denselben Patienten wurden die Seren einmal mit der C1q-Methode nach zirkulierenden Immunkomplexen und mit der indirekten Immunfluoreszenz nach Melanomantikörpern untersucht. Wie korrelieren die Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungsmethoden?
- d) moegliche Bedeutung von Immunkomplexen bei malignen Melanomen?
- e) lassen sich bei Seren von Patienten mit Naevus Sutton vermehrt zirkulierende Immunkomplexe nachweisen?
- f) moegliche Bedeutung von Immunkomplexen bei Patienten mit Naevus Sutton?
- g) lassen sich bei Patienten nach Vasektomie im Serum gehaeuft zirkulierende Immunkomplexe nachweisen?
- h) moegliche Bedeutung von Immunkomplexen bei Patienten nach Vasektomie?

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Normalkollektiv

Das fuer die durchgefuehrten Testmethoden benoetigte Untersuchungsmaterial (Vollblut, Serum) stammte von Patienten der Dermatologischen Universitaetsklinik in Muenchen. Kontrollblut klinisch gesunder Spender und die Frischblutkonserven zur Isolierung der C1q-Komponente aus Humanserum wurde von der Blutbank der Medizinisch-haematologischen-Laboratorium GmbH, Muenchen 2 Lessingstr. 6 bezogen. Zur Ermittlung der Normalwerte fuer den C1q-Ablenkungstest wurden Seren von 18 klinisch gesunden Vasektomie-patienten vor Ausfuehrung der Vasektomie und von 20 klinisch gesunden Kontrollpersonen verwendet.

2.2.

Untersuchte Patienten:

In folgenden Seren wurden zirkulierende Immunkomplexen bestimmt:

Seren von 18 Patienten vor Vasektomie

Seren von 54 Patienten nach Vasektomie

Seren von 30 Patienten mit malignen Melanomen, wobei von 5 Patienten Verlaufskontrollen waehrend der Behandlung mit BCG bzw. BCG/DTIC durchgefuehrt wurden.

Methode des 125J-C1q-Ablenkungstests zum Nachweis von

zirkulierenden, löslichen Immunkomplexen

Die Originalmethode wurde von Sobel beschrieben (137).

2.2.1. Prinzip des C1q-Ablenkungstests

Das Prinzip des 125J-C1q-Ablenkungstests besteht in einer kompetitiven Hemmung ("Ablenkung") der Bindung des 125J markierten Komplementfaktors C1q an die antikörperbeladenen Schaferythrozyten, welche durch die Reaktion von 125J-C1q mit löslichen, im Serum zirkulierenden Antigen-Antikörper-Komplexen bewirkt wird.

Bei 20 vorher getesteten Seren von klinisch gesunden Kontrollpersonen ergab sich unter den beschriebenen Testbedingungen eine Bindung von 71%-82% des eingesetzten 125J-C1q an die sensibilisierten Schaferythrozyten (EA-Zellen).

Die 18 Seren von klinisch gesunden Patienten vor Vasektomie konnten wie Seren von klinisch gesunden Kontrollpersonen behandelt werden. Der Mittelwert der in diesen 20 + 18 Kontrollseren erreichten 125J-C1q-Bindung wurde der Berechnung der 125J-C1q-Ablenkung durch die übrigen Patientenserum zugrundegelegt.

Die prozentuale Bindung von C1q an die Schaferythrozyten wurde wie folgt berechnet:

$$\% \text{ Bindung} = \frac{\text{cpm im Sediment}}{\text{cpm im Sediment} + \text{cpm im Ueberstand}} \times 100$$

Die Berechnung der prozentualen 125J-C1q-Ablenkung erfolgte entsprechend der nachstehenden Formel:

$$\% \text{ Ablenkung} = \frac{\% \text{ Bindung im Kontrollansatz} - \% \text{ Bindung im Testansatz}}{\% \text{ Bindung im Kontrollansatz}} \times 100$$

Alle Serumproben wurden in Doppelansätzen getestet und als Resultat der jeweilige Mittelwert verwendet.

2.2.2. Praeparation von C1q aus Humanserum

a) Serumpraeparation

Man laesst 500 ml frisches Nativblut eine Stunde lang bei Raumtemperatur gerinnen und eine weitere Stunde lang bei 4 Grad C stehen. Das Serum gewinnt man durch Zentrifugation bei 4 Grad C mit 1500 g fuer 15 min. 110 ml des Serums werden erneut zentrifugiert (bei 4 Grad C mit 30000 g fuer 30 min). Die danach oben schwimmende Schicht von Very Low Density Lipoproteinen und Chylomikronen wird mit einer Pasteurpipette abgesaugt. Den Rest des Serums verwendet man zur Praeparation von C1q.

b) Herstellung der Loesungen

Zur Praeparation des C1q sind insgesamt 6 Pufferloesungen notwendig, welche aus verschiedenen konzentrierten EDTA-Loesungen von unterschiedlichen ph-Wert und Salzkonzentration bestehen.

Loesung 1: 500 ml 0.1 M EDTA wird mit 1 N Naoh auf ph 7.5 eingestellt.

Loesung 2: Man gibt 950 ml aqu. dest. zu 50 ml der Loesung 1.

Loesung 3: 700 ml aqu. dest. werden zu 200 ml der Loesung 1 hinzugefuegt.

Loesung 4: 100 ml 0.75 M NaCl, 0.01 M EDTA werden mit 0.1 N NaOH auf ph 5 eingestellt.

Loesung 5: 2 l 0.1 M EDTA stellt man durch Zugabe von 1 N NaOH auf ph 5 ein. Die eingestellte Loesung wird mit einem Liter aqu. dest. verduennt.

Loesung 6: 100 ml 0.3 M NaCl und 0.01 M EDTA werden mit 0.1 N NaOH auf ph 7.5 eingestellt.

c) Praeparation von C1q

100 ml Serum werden mit 25 ml der Loesung 1 10 min bei 37 Grad C inkubiert, um den C1qrs-Komplex zu dissoziieren. Von nun an fuehrt man die weiteren Schritte im Eisbad mit eisgekuehlten Loesungen durch. Unter Ruehren mit einem Glasstab werden zu der Serum-EDTA-Mischung 500 ml der Loesung 2 hinzugegeben. Dies laesst man eine Stunde im Eiswasser stehen und ruehrt dann alle 20 min mit dem Glasstab vorsichtig 1 min lang um. Das nach einer Stunde gebildete Praezipitat gewinnt man durch 30 min Zentrifugation bei 12000 g und 4 Grad C. Bei diesem Arbeitsgang ist es ratsam, durchsichtige Glasroehrchen zu verwenden, um das feine Praezipitat, welches sich an der Wand niederschlaegt, wiederzufinden. Dieses Praezipitat wird sehr vorsichtig in 120 ml der Loesung 3 geloest und erneut bei 12000 g zentrifugiert. Dieser Waschvorgang wird einmal wiederholt. Danach loest man das Praezipitat in 25 ml der Loesung 4 und laesst es 12 Stunden bei 4 Grad C stehen. Bei 30000 g und 4 Grad C zentrifugiert man nach Ablauf der Kaeltelagerung die Loesung 30 min lang. Der Ueberstand wird zwei Stunden gegen 1 l der Loesung 5 dialysiert und, nach Wechsel der Dialyseloesung, weitere zwei Stunden dialysiert. Das gebildete Praezipitat gewinnt man durch Zentrifugation bei 12000 g und 4 Grad C fuer 30 min. Es wird in 25 ml der Loesung 5 suspendiert und wie beschrieben zentrifugiert. Auch dieser Waschvorgang wird einmal wiederholt. Das gewonnene Praezipitat wird in 6 ml der Loesung 6 aufgeloest und zwei Stunden bei 4 Grad C stehengelassen. Daraufhin wird 30 min bei 30000 g und 4 Grad C zentrifugiert. Das in dem so gewonnenen Ueberstand enthaltene hochgereinigte C1q wird fuer die weitere Radiojodierung verwendet. Mittels Immundiffusion bestimmt man die Menge des gebildeten C1q. Sie betrug bei der zweimal durchgefuehrten Praeparation im Mittel 5 mg ausgehend von 100 ml Serum.

2.2.3. Radiojodierung von humanem C1q

C1q wird mit Na¹²⁵I radioaktiv markiert. Verwendet wird die Methode nach Heusser, welche fuer biologisch labile Proteine besonders geeignet ist. 5 ml der Proteinloesung (1 mg C1q / ml der Loesung 6) werden versetzt mit:

- 1 mCi Na¹²⁵I (Amersham Badler Braunschweig)
- 25 ul NaJ (0.006 mg / ml)
- 25 ul Lactoperoxidase (Calbiochemical Corporation, San Diego, USA)
- 25 ul H₂O₂ (1 : 30000)

Die Mischung wird durchgeschuettelt und fuer 15 min im Eisbad stehengelassen. Die enzymatische Reaktion wird unterbrochen durch Zugabe von:

- 50 ul NaJ (6 mg / ml)
- 50 ul NaNO₃ (0.03 mg / ml)

Der Prozentsatz der aufgenommenen Radioaktivitaet, d. h. der durch 5 % Trichloressigsaeure faellbare proteingebundene Anteil an ¹²⁵I, betrug bei den Praeparationen 74 % bis 88 %. Die Bestimmung der Radioaktivitaet wurde durchgefuehrt mit einem Gammacounter (Searle 1195, Gamma counting system, Des Plaines, USA). Das radiojodierte C1q wurde in Portionen zu 1 ml eingefroren, und bis zum Testbeginn bei Temperaturen unter -70 Grad C gelagert.

2.2.4. Herstellung der Pufferloesungen

1. Veronal - Puffer (VB) besteht aus:
 - 8,383 g NaCl
 - 0,3 g Na - Barbital
 - 0,46 g Barbitursaeure
 - mit aqu. dest. aufgefuellt auf 1 l
2. Gelatine - Veronal - Puffer (GVB)
 - 1 g Gelatine wird zu 9 l VB hinzugegeben. (0,1 %)
3. Saccharose - Veronal - Puffer (SVB) besteht aus:
 - 9,25 % ultrareiner Saccharose
 - 0,025 M Na - Barbital
 - $1,5 \times 10$ hoch -4 M Ca ++
 - 5×10 hoch -4 M Mg ++
 - mit 0,1 N NCl wird der ph 7,2 eingestellt
4. physiologisch Kochsalzloesung - 0,9 %
5. Na - Phosphat - Puffer 0,05 M
 - 5 ml NaH_2PO_4 1 M
 - 30 ml Na_2HPO_4 0,5 M
 - werden mit 500 ml aqu. dest.gemischt und auf ph 7 eingestellt
6. 40 % - ige Saccharose - Loesung in Na - Phosphat - Puffer

2.2.5. Herstellung von sensibilisierten Schafererythrozyten (EA-Zellen)

Schafererythrozyten werden mit Hilfe von Anti-Hammel-Erythrozyten-Serum (Amboceptor, Titer 1 : 6000, Behringwerke AG, Marburg) sensibilisiert. Die guenstigste Antikoerpermengung wird folgendermassen bestimmt: in verschiedenen Antikoerperverduennungen in isotonischem Gelatine-Veronal-Puffer (GVB) vom ph 7,5 werden Schafererythrozyten bei 37 Grad C 30 min lang inkubiert. Nach zweimaligem Waschen in GVB wird die Bindung von ^{125}J -C1q an die Erythrozyten gemessen. Bei einer Verduennung von 1 : 64 ergab sich eine C1q-Aufnahme von 65 % (siehe Abb. 1), welche fuer diese Arbeit verwendet wurde.

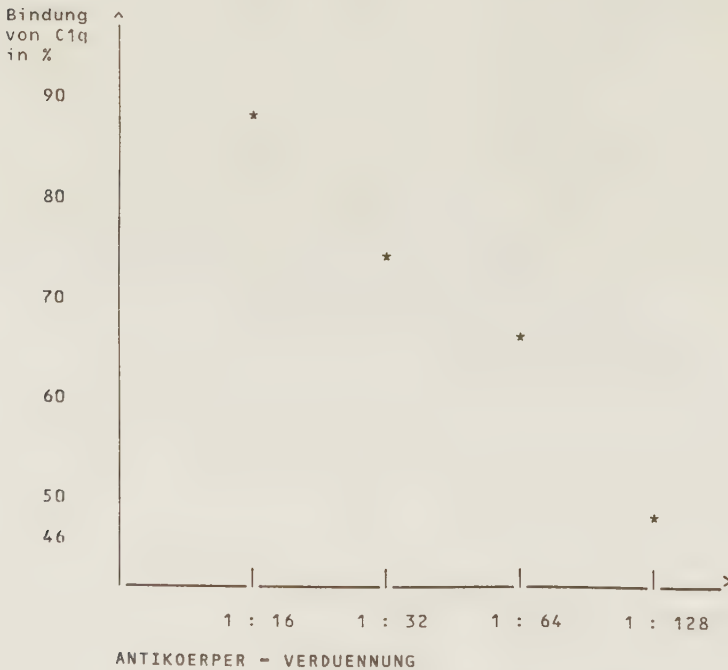


ABB. 1 Bestimmung der guenstigsten Antikoerperverduennung mit der der C1q-Ablenkungstest durchgefuehrt wird.

2.2.6. Ablauf des C1q-Ablenkungstests

Vor Testbeginn wurden die zu untersuchenden Seren und die radiojodierte C1q-Lösung aufgetaut und bei 13000 g 5 min lang abzentrifugiert, um etwaig entstandene Niederschläge von denaturiertem Protein zu entfernen. Jeder Test wurde in Doppelansätzen durchgeführt und bestand aus folgenden Schritten:

1. - 50 ul Serum, 100 ul 0.9 % NaCl-Lösung und 100 ul Saccharose-Veronal-Puffer wurden in ein Teströhrchen (Eppendorf) gegeben und 30 min lang bei 56 Grad C inkubiert.
2. - Zu dem hitzeinaktivierten Serum pipettierte man 30 ul (1 ul C1q) und liess es 15 min bei Raumtemperatur stehen.
3. - Danach fügte man 200 ul sensibilisierte Schäferythrozyten (EA-Zellen) (4×10^8 EA in SVB) hinzu und inkubierte erneut 15 min bei Raumtemperatur.
4. - Inzwischen wurden in ein Polyäthylenröhrchen 150 ul der 40 % -igen Saccharose-Lösung in 0,05 M Phosphat-Puffer gefüllt. Darüber pipettierte man nach der zweiten Inkubation 200 ul des Reaktionsgemisches.
5. - Nach der Zentrifugation bei 13000 g fuer 5 min wurde das Röhrchen oberhalb der Erythrozyten mit einer Arterienklemme gefasst und mit einem Skalpell die zelluläre Phase von der flüssigen getrennt. Die beiden Teile des Röhrchens wurden in verschiedenen Messbehältern gesammelt. Dann wurde in beiden die Radioaktivität gemessen. Abb. 2 zeigt nochmals den schematischen Ablauf des C1q-Ablenkungstests zum Nachweis von löslichen Immunkomplexen im Serum.

3. E R G E B N I S S E

3.1.

Ergebnisse des C1q-Ablenkungstests bei 104 Seren von Patienten
der Dermatologischen Universitätsklinik in Muenchen

Bei 104 Patienten der Dermatologischen Universitätsklinik in Muenchen wurde im Serum die Konzentration von zirkulierenden Immunkomplexen untersucht. 42 der 104 Seren zeigten eine C1q-Ablenkung. Die Ergebnisse dieser 42 Seren zeigt Abb. 3

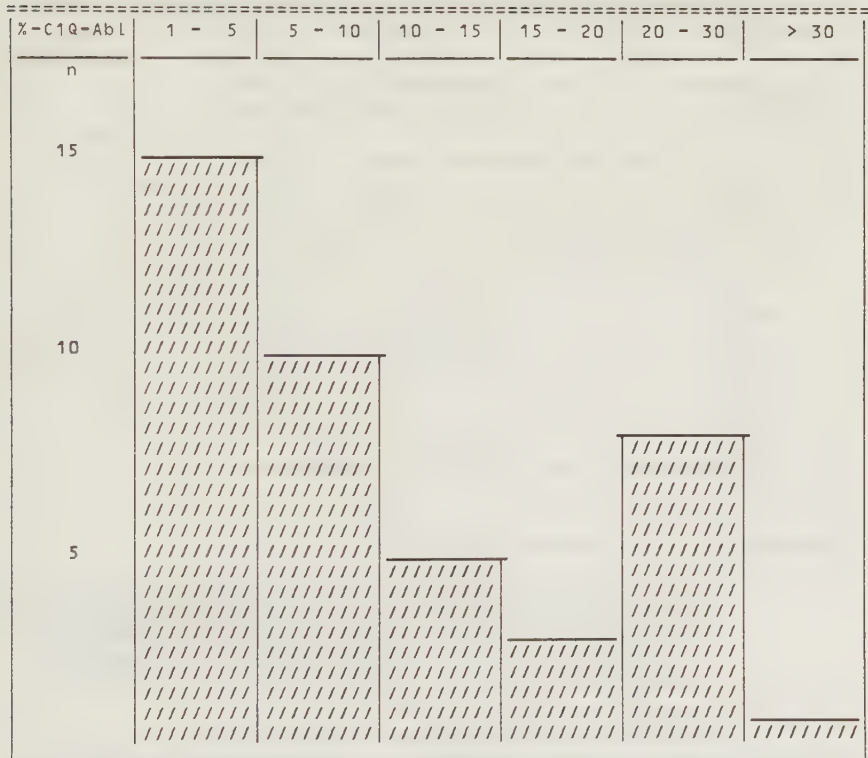


ABB.3 %-C1q-Ablenkung von 42 Seren von Patienten der dermatologischen Universitätsklinik Muenchen. Abb. 3 zeigt die Hoehe der Ablenkung.

3.1.1. Ergebnisse des 125J-C1q-Ablenkungstests zum Nachweis von
 Loeslichen Immunkomplexen im Serum von 104 Patienten der
 Dermatologischen Universitaetsklinik in Muenchen

	Zahl der unters. Serum	Zahl der pos. Faelle	Mittel der C1q-Abl (%)	Mittel der pos Faelle (%)
Kontrolle	20	1	1,32	9,5
vor Vasektomie	18	1	0,82	7,25
nach Vasektomie	54	4	1,09	11,98
maligne Melanome	30	18	12,42	17,99
NMM	20	9	10,00	17,26
SSM	9	8	16,53	18,13
LMM	1	1	23,60	23,6
MM + Meta- stasen	4	2	7,72	11,05
Naevus Sutton	2	1	8,90	12,6

Tabelle 1: Positiv sind die Werte der Serum, die ausserhalb
 des 2s-Bereiches der Standardabweichung des Normalkollektivs
 liegen. Es wurden nur 18 Serum von Patienten vor Vasektomie
 (im Gegensatz zu 54 Serum von Patienten nach Vasektomie)
 untersucht, da nicht bei allen Patienten, bei denen eine
 Vasektomie durchgefuehrt wurde, Serum abgenommen wurde.

NMM = primar knotiges Melanom

SSM = oberflaechlich spreitendes Melanom

LMM = Lentigo-maligna-Melanom

3.1.2 Ergebnisse des C1q-Ablenkungstests aufgeschlüsselt nach der Diagnose

Tabelle 2:

DIAGNOSE	n	-5	-10	-20	-30	>30	%-C1q-Abl.
vor Vasektomie	18	2	1	-	-	-	
nach Vasektomie	54	2	3	2	-	-	
=====							
maligne Melanome	30	11	5	5	8	1	
SSM	9	1	2	2	3	1	
NMM	20	10	3	3	4	-	
LMM	1	-	-	-	1	-	
=====							
Naevus Sutton	2	-	1	1	-	-	

3.2. Immunkomplexe bei Vasektomie

18 Seren von Patienten vor Vasektomie und 54 Seren von Patienten nach Vasektomie wurden mit dem C1q-Ablenkungstest auf das Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen untersucht. Es handelt sich bei den Patienten vor und nach Vasektomie nicht um dieselben Patienten.

Bei den Seren der Patienten vor Vasektomie betrug der Mittelwert der 125J-C1q-Ablenkung 0,82 % und unterscheidet sich somit nicht signifikant von dem der gesunden Kontrollpersonen (1,32 %), was auch nicht zu erwarten war, da es sich ja um klinisch gesunde Personen handelte, an denen erst ein Eingriff ausgeführt werden sollte. Darum werden fuer den weiteren Verlauf der Arbeit die Seren der Patienten vor Vasektomie den Seren der Kontrollpersonen subsummiert. Es ergibt sich nun ein neuer Mittelwert fuer die Kontrollgruppe von 1,07 %.

Bei den Seren der Patienten nach Vasektomie betrug der Mittelwert der 125J-C1q-Ablenkung 1,09 % und unterscheidet sich somit nicht signifikant von dem der gesunden Kontrollpersonen (1,07 %).

3.2.1. Ergebnisse des 125J-C1q-Ablenkungstests bei Patienten
vor Vasektomie

Von den 18 Seren der Patienten vor Vasektomie zeigten 3 eine Ablenkung, welche jedoch nicht signifikant waren.

3.2.2. Ergebnisse bei Patienten nach Vasektomie

54 Seren von Patienten nach Vasektomie wurden mit dem C1q-Ablenkungstest auf das Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen untersucht.
Von den 54 Seren zeigten 7 Seren eine Ablenkung.

	1. C1q- Abl.-Test in %
SERUM 1	3,5
SERUM 2	15,9
SERUM 3	7,0
SERUM 4	4,4
SERUM 5	6,9
SERUM 6	10,7
SERUM 7	8,5

Tabelle 3: %-C1q-Ablenkung von 7 Seren von Patienten nach Vasektomie.

ABB. 4

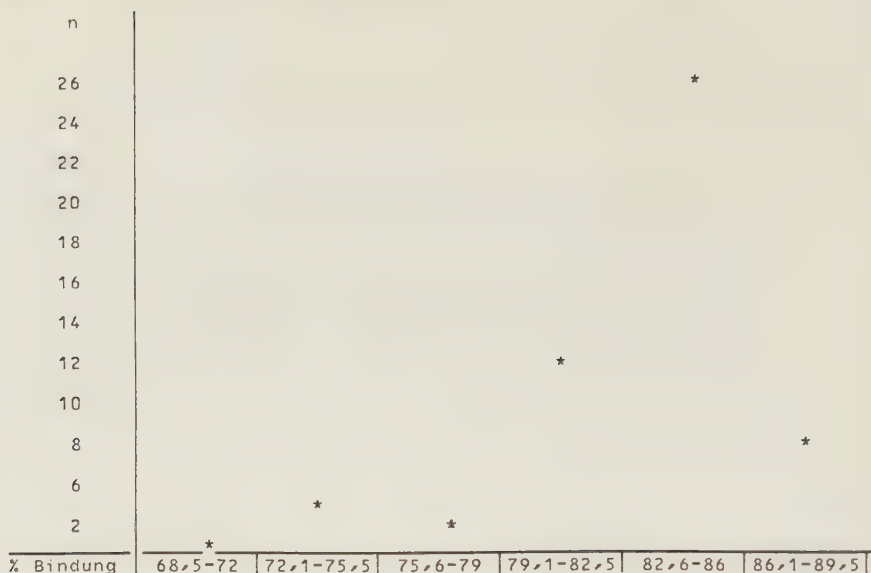


ABB.4 zeigt an 54 Seren von Patienten nach Vasektomie die Haeufigkeit der prozentualen Bindung an C1q.

Die Berechnung der prozentualen C1q-Ablenkung erfolgt mit Hilfe der prozentualen Bindung entsprechend der nachstehenden Formel:

$$\% \text{ Ablenkung} = \frac{\% \text{ Bindung im Kontrollansatz} - \% \text{ Bindung im Testansatz}}{\% \text{ Bindung im Kontrollansatz}} \times 100$$

An Hand der Abbildung 4 laesst sich eine Normalverteilung vermuten, wobei die 7 Seren, die eine Ablenkung zeigten, an der Grenze, bzw. ausserhalb der 2s-Grenze der Standardabweichung liegen.

3.3.

Immunkomplexe bei malignen Melanomen

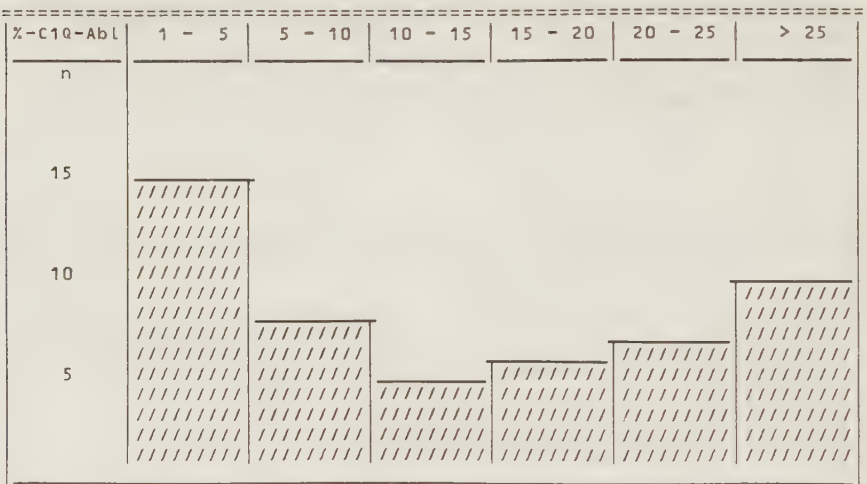
51 Seren von 30 Patienten mit histologisch gesicherten malignen Melanomen wurden auf das Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen untersucht. Im einzelnen handelte es sich um 20 Patienten mit primär knotigen Melanomen (NMM), um 9 Patienten mit oberflächlich spreitenden Melanomen (SSM) und in einem Fall um einen Patienten mit Lentigo-maligna-Melanom. Bei 4 Patienten waren bereits Metastasen vorhanden.

Der Mittelwert der 125J-C1q-Ablenkung betrug bei malignen Melanomen 12,42 %. Die Ergebnisse der Melanomseren unterschieden sich nach dem students test hoch signifikant ($p < 0,01$) von denen der Kontrollseren. In Abb. 5 und 6 sind die Ergebnisse bei malignen Melanomen graphisch dargestellt. In Abb. 7 und 8 sind die Ergebnisse der Ablenkung nach dem histologischen Typ der Melanome aufgeschlüsselt. Neun der ausgetesteten Seren von Patienten mit primär knotigen Melanomen und ein Serum von einem Patienten mit oberflächlich spreitendem Melanom zeigten einen negativen Testausfall. Alle übrigen Seren, einschliesslich des Patienten mit Lentigo maligna-Melanom, ergaben zum Teil sehr hohe C1q-Ablenkungen.

3.3.1. Ergebnisse des 125J-C1q-Ablenkungstests bei Patienten mit malignen Melanomen

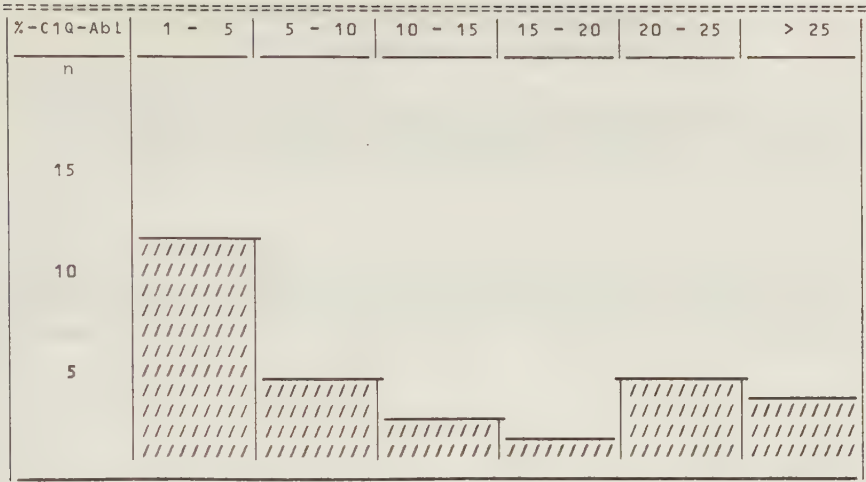
51 Seren von 30 Patienten mit malignen Melanomen wurden auf das Vorkommen von zirkulierenden Immunkomplexen untersucht. Abb. 5 gibt die Ergebnisse graphisch wieder. In Abb. 6 werden die Ergebnisse der C1q-Ablenkung der 30 Patienten mit malignen Melanomen dargestellt, wobei bei den Patienten, bei denen mehrere Immunkomplexbestimmungen durchgeführt wurden, der Mittelwert aus den verschiedenen Werten zugrunde gelegt wurde.

ABB. 5



X-C1q-Ablenkung von 51 Seren von 30 Patienten mit malignen Melanomen. Abb. 5 zeigt die Hoehe der Ablenkung.

ABB. 6

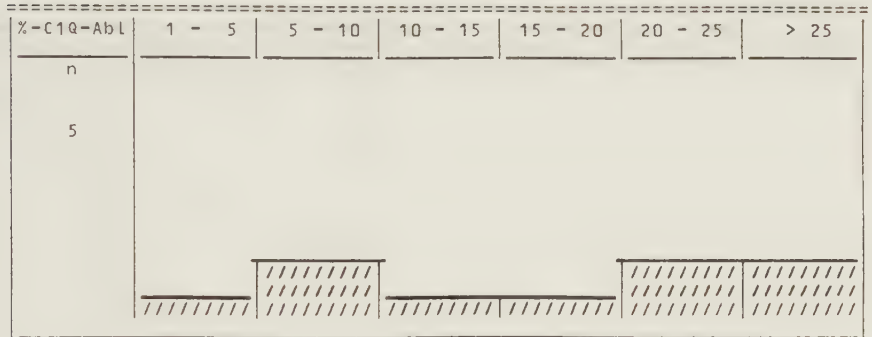


X-C1q-Ablenkung vom Mittelwert der Seren von 30 Patienten mit malignen Melanomen. Abb. 6 zeigt die Hoehe der Ablenkung.

3.3.3. Ergebnisse bei Patienten mit histologisch gesicherten
oberflaechlich spreitenden Melanomen (SSM)

Bei 9 Patienten mit SSM ergab der 125J-C1q-Ablenkungstest einen Mittelwert von 16,53 %. Die Aufschluesselung zeigte 8 positive Faelle mit einem Mittelwert von 18,13 % Ablenkung. In Abb. 8 sind die Ergebnisse dargestellt.

ABB. 8



%-C1q-Ablenkung von 9 Seren von Patienten mit SSM.

Abb. 8 zeigt die Hoehe der Ablenkung.

3.3.4. Ergebnis bei einem Patienten mit histologisch gesichertem
Lentigo-maligna-Melanom (LMM)

Bei einem Patienten mit LMM wurde der 125J-C1q-Ablenkungstest durchgefuehrt mit einer Ablenkung von 23,6 %.

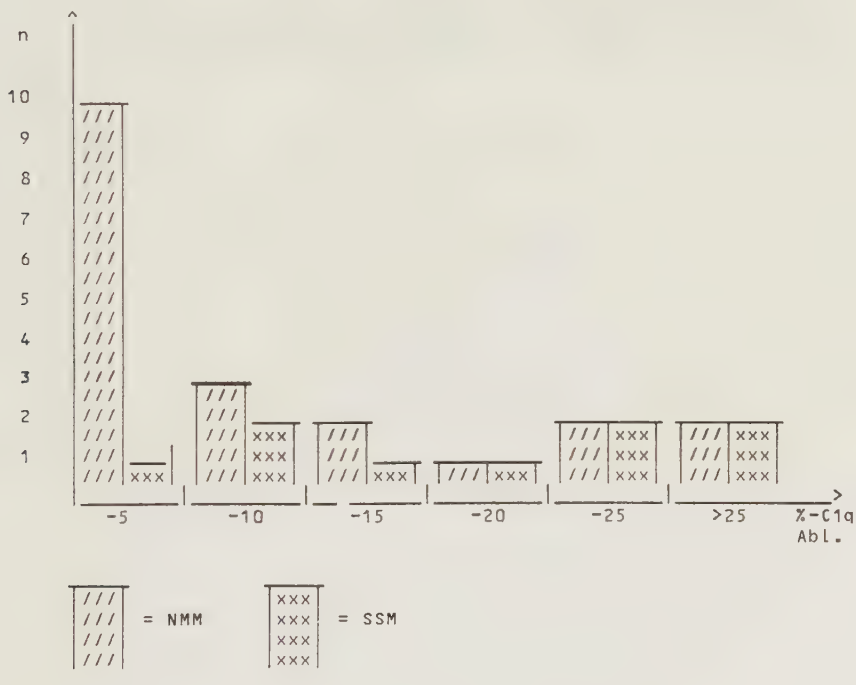
3.4. Immunkomplexe bei Naevus Sutton

Bei zwei Seren von Patienten mit histologisch gesichertem Naevus Sutton wurde der 125J-C1q-Ablenkungstest durchgefuehrt. Der Mittelwert ergab eine Ablenkung von 8,9 %. Ein Serum ergab ein positives Ergebniss.

3.5. Gegenueberstellung der Ergebnisse der C1q-Abl. von NMM und SSM

In Abb. 9 wird die Haeufigkeit der Hoehe der Ablenkung bei NMM mit der bei SSM verglichen.
Beim NMM gab es 10-mal haeufiger eine C1q-Ablenkung im Bereich von 0 - 5 % als beim SSM. Im hoeheren Bereichen der C1q-Ablenkung glichen sich die Ergebnisse. Abb. 9 stellt die Ergebnisse graphisch dar.

ABB. 9



3.6. Immunkomplexe bei Patienten mit malignen Melanomen
mit histologisch nachgewiesenen Metastasen

Bei 4 Patienten mit MM mit Metastasen betrug der Mittelwert des 125J-C1q-Ablenkungstests 7,7 % . Bei 2 Patienten ergaben sich positive Ergebnisse mit einem Mittelwert von 11,05 % Ablenkung. Positiv sind die Werte, die ausserhalb des 2s-Bereiches der Standardabweichung des Normalkollektivs liegen. Abb. 10 gibt das Ergebniss wieder.

ABB. 10 Ergebnisse bei 4 Patienten mit MM mit Metastasen

%C1q-Abl	
1. Patient	6,1
2. Patient	16,0
3. Patient	5,2
4. Patient	3,6

3.7. Immunkomplextiter und histologische Eindringtiefe (Level n. Clark)

Bei 30 Patienten mit MM wurde die Hoehe der C1q-Ablenkung mit dem histologisch gesicherten Level nach Clark verglichen. Es sollte festgestellt werden, ob eine Beziehung zwischen Eindringtiefe des Tumors und dem Immunkomplextiter besteht. Es scheint keine Beziehung zwischen der Hoehe der C1q-Ablenkung und dem Level zu bestehen (zumindest bei den untersuchten Seren).

Abb. 11 und 12 stellen die Ergebnisse graphisch dar.

In Abb. 11 werden die Ergebnisse des C1q-Ablenkungstests von Patienten mit MM in Beziehung zur histologischen Eindringtiefe dargestellt (Level nach Clark).

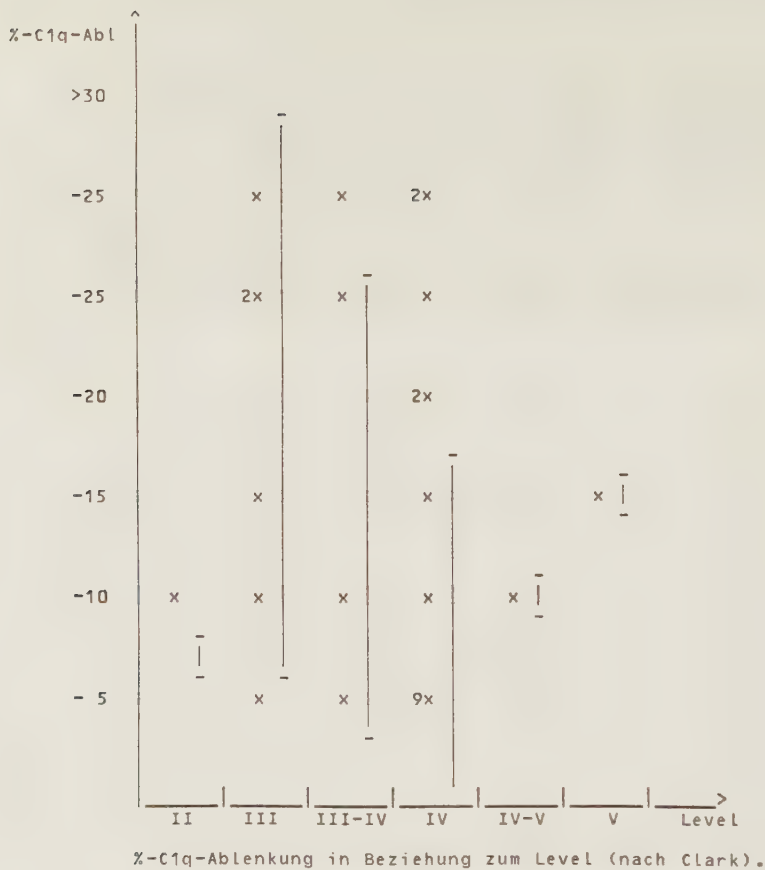
ABB. 11

%-C1q-Abl.

> 25	-	1	1	2	-	-
20-25	-	2	1	1	-	-
15-20	-	-	-	1	-	-
10-15	-	1	-	1	-	1
5-10	1	1	1	1	1	-
0- 5	-	1	1	9	-	-
Level	II	III	III-IV	IV	IV-V	V

%-C1q-Ablenkung in Beziehung zum Level (nach Clark).

Abb. 12



x = Anzahl der Faele

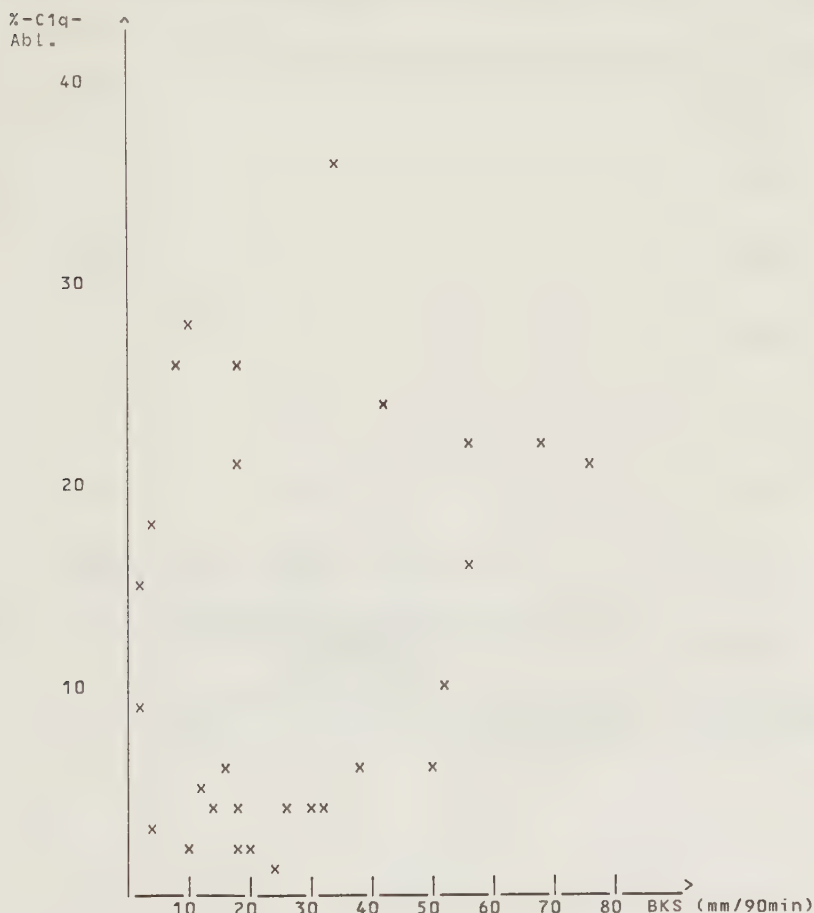
—
|
— = Streuung um den Mittelwert

3.8. Beziehung von Immunkomplexen im Serum von Patienten mit malignen Melanomen und der BKS

Bei 30 Patienten mit MM wurde der Immunkomplex titer bestimmt und die BKS. Es scheint, dass man auf Grund einer hohen BKS auf eine hohe Ablenkung schliessen kann, aber eine hohe Ablenkung muss keine hohe BKS bedeuten.

In Abb. 13 wird die Beziehung von Immunkomplexen bei malignen Melanomen und der BKS graphisch dargestellt.

ABB. 13 %-C1q-Abl. und BKS



3.9. Beziehung zwischen C1q-Ablenkung bei malignen Melanomen und dem Melanomantikörper-titer

Bei 21 Patienten mit MM wurde sowohl der Immunkomplextiter als auch der Melanomantikörper-titer bestimmt. In Abb. 14 wird das Ergebniss graphisch dargestellt. In Abb. 15 und 16 werden die Beziehung zwischen den beiden Titern bei Patienten mit NMM bzw. SSM dargestellt.

ABB. 14 %-C1q-Ablenkung und MM-Antikörper

%C1q-Abl				
> 25	2x			
20-25	x	3x		
15-20				
10-15	2x	x		
5-10	3x		2x	
0- 5	3x	3x	x	
TITER	1:20	1:40	1:60	1:80

Abb. 14 stellt die Beziehung zwischen %-C1q-Ablenkung und MM-Antikörpern graphisch dar.

x = Anzahl der Faelle

3.9.1. Beziehung zwischen 125J-C1q-Ablenkung bei NMM und dem
Melanomantikoerpertiter

ABB. 15 %-C1q-Ablenkung und MM-Antikoerper bei NMM

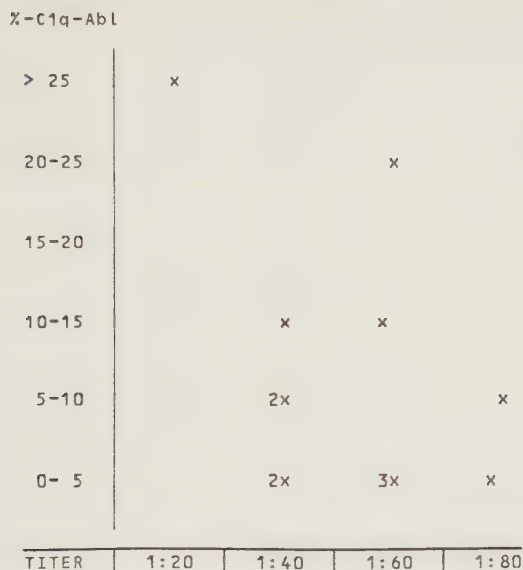


Abb. 15 stellt die Beziehung zwischen %-C1q-Ablenkung und MM-Antikoerpern bei NMM graphisch dar.

x = Anzahl der Faelle

3.9.2. Beziehung zwischen 125J-C1q-Ablenkungstest bei SSM und dem Melanomantikoerpertiter

ABB. 16 %C1q-Ablenkung und MM-Antikoerper bei SSM

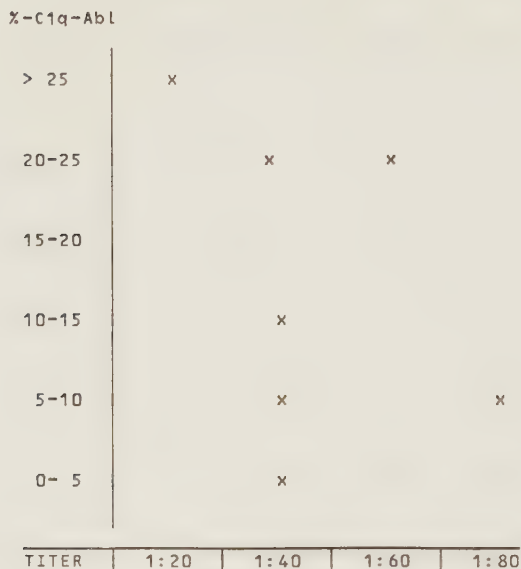


Abb. 16 stellt die Beziehung zwischen %C1q-Ablenkung und MM-Antikoerpern bei SSM graphisch dar.
x = Anzahl der Faelle

Abbildung 14 bis 16 lassen vermuten, dass keine Beziehung zwischen der Hoehe der C1q-Ablenkung und der Hoehe des Melanomantikoerpertiter besteht.

3.10. Verlaufskontrolle bei 5 Patienten mit malignen Melanomen

Bei 5 Patienten mit histologisch gesicherten Melanomen wurden Seren 1 Woche, 3 Wochen und 8 Wochen post op. entnommen und mit dem C1q-Abl.-Test auf zirkulierende Antikörper untersucht. Die gleichen Seren wurden in einer anderen Arbeit nach Melanomantikörpern untersucht. Abb. 17 und 18 geben die Ergebnisse wieder. In Abb. 19 bis 23 werden die Verläufe der beiden Titer bei den einzelnen Patienten graphisch dargestellt.

3.10.1. Ergebnisse der Verlaufskontrolle mit dem C1q-Ablenkungstest

ABB : 17 Verlaufskontrolle bei 5 Patienten mit MM

	1 Wo	3 Wo	8 Wo
Patient B.M.	3,7	8,5	-
Patient Ha.M.	22,9	19,9	21,2
Patient H.M.	5,2	2,9	4,1
Patient S.P.	30,0	19,3	17,8
Patient T.G.	-	8,5	0,0

%-C1q-Ablenkung
Verlaufskontrolle bei 5 Patienten.

3.10.2. Ergebnisse einer Verlaufskontrolle bei 5 Patienten
mit MM mittels Melanomantikoerpertiter

ABB : 18 Verlaufskontrolle bei 5 Patienten mit MM

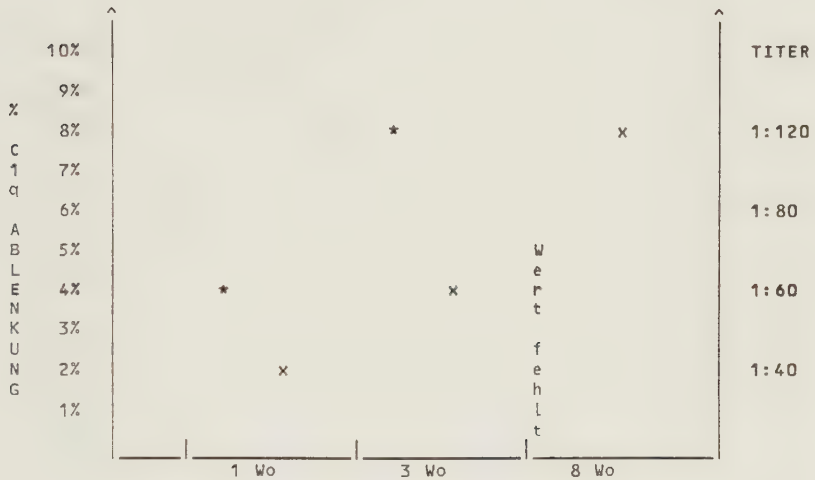
	1 Wo	3 Wo	8 Wo
Patient B.M.	1:40	1:60	1:120
Patient Ha.M.	1:40	1:80	1:120
Patient H.M.	1:40	1:60	1:120
Patient S.P.	1:60	1:120	1:120
Patient T.G.	1:40	1:80	1:80

Verlaufskontrolle des Melanomantikoerpertiters bei 5 Patienten.

3.10.3. Vergleich von C1q-Ablenkung mit dem
Melanomantikoerpertiter beim Patienten B. M.

ABB. 19 stellt das Ergebnis graphisch dar.

ABB. 19



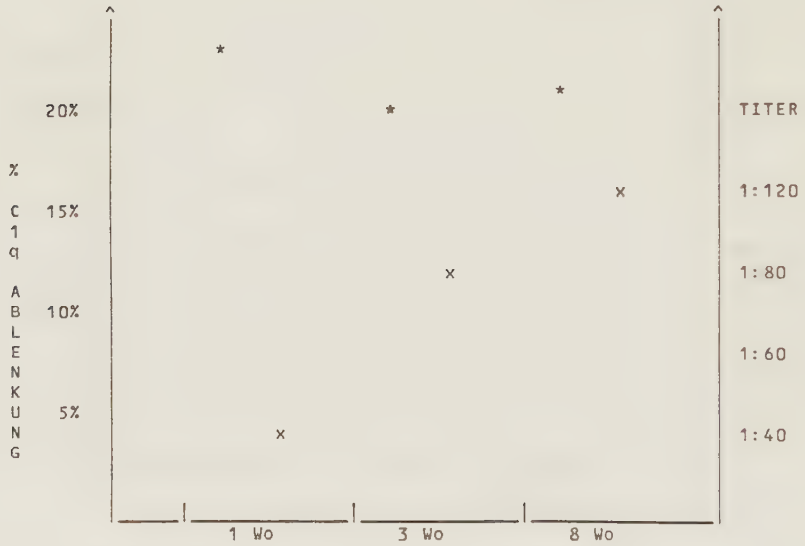
* = %-C1q-Abl.

x = Titer an MM-Antikörper

3.10.4. Vergleich von C1q-Ablenkung mit dem
Melanomantikörper-titer beim Patienten Ha. M.

ABB. 20 stellt das Ergebnis graphisch dar.

ABB. 20



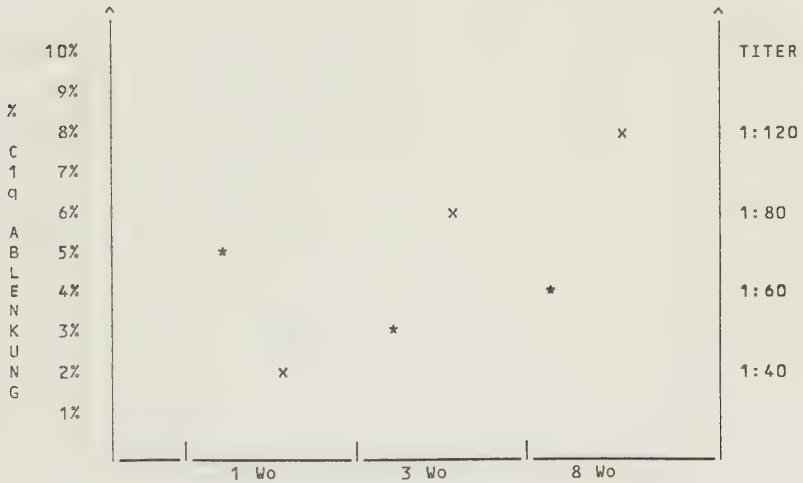
* = %-C1q-Abl.

x = Titer an MM-Antikörper

3.10.5. Vergleich von C1q-Ablenkung mit dem
Melanomantikörpertiter beim Patienten H. M.

ABB. 21 stellt das Ergebnis graphisch dar.

ABB. 21



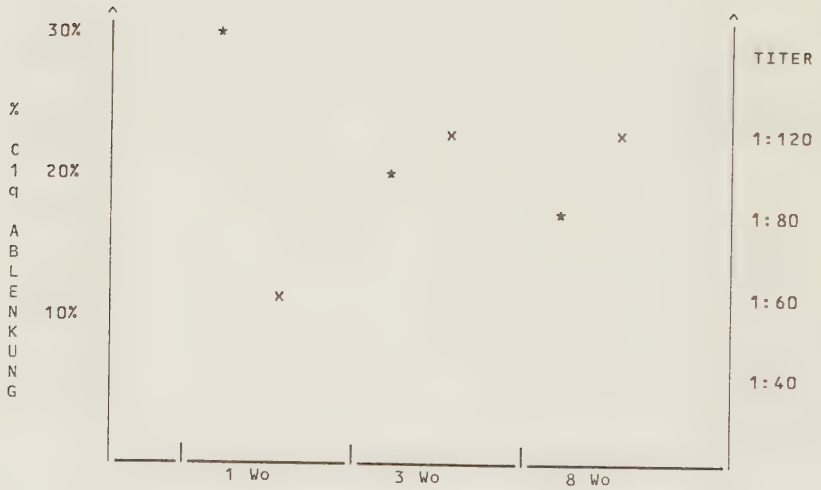
* = % - C1q - Abl.

x = Titer an MM - Antikörper

3-10.6. Vergleich von C1q-Ablenkung mit dem
Melanomantikörpertiter beim Patienten S. P.

ABB. 22 stellt das Ergebnis graphisch dar.

ABB. 22



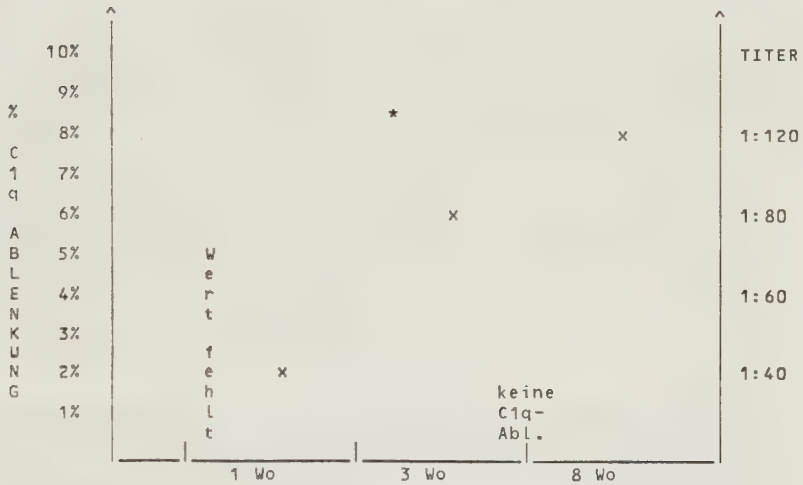
* = %C1q-Abl.

x = Titer an MM-Antikörper

3.10.7. Vergleich von C1q-Ablenkung mit dem
Melanomantikoerpertiter beim Patienten T. G.

ABB. 23 stellt das Ergebnis graphisch dar.

ABB. 23



* = %-C1q-Abl.

x = Titer an MM-Antikoerper

Nach der graphischen Darstellung in Abbildung 19 bis 23 scheint keine Beziehung zwischen der C1q-Ablenkung und dem Melanomantikoerpertiter bei den 5 Seren der Patienten mit histologisch gesicherten malignen Melanomen zu bestehen, bezogen auf den zeitlichen Verlauf (Serumentnahme 1, 3 und 8 Wochen post operationem).

4. DISKUSSION

4.1. Kritischer Vergleich der Methoden zum Nachweis von Löslichen Immunkomplexen im Serum

Immunkomplexe bestehen aus Antigen und Antikörper. Die Variabilität der Antigene in den Immunkomplexen ist gross: Neben Antigenen aus Bakterien, Viren und anderen Erregern kommen tumorassoziierte Antigene und im Rahmen von Autoaggressionserkrankungen organismuseigene Antigene vor. Der Antigenanteil eines Immunkomplexes kann auch ein Immunglobulin sein. Während Zusammensetzung, Struktur, Molekulargewicht, Ladung und Löslichkeit dieser Antigene entsprechend der nicht überschaubaren Anzahl von Möglichkeiten variieren können, stellen Antikörper definierte Proteine dar, die vorwiegend, jedoch nicht ausschliesslich, im Plasma anzutreffen sind. Die Bildung von Immunkomplexen unterliegt dem Massenwirkungsgesetz, d. h. die Anzahl der gebildeten Immunkomplexe befindet sich im Gleichgewicht mit der Menge an freien Antigenen und freien Antikörpern. Konzentrationsänderungen des einen oder des anderen Partners führen somit zur Verschiebung des Gleichgewichtes. Entsprechend den Unterschieden ihrer Zusammensetzung haben Immunkomplexe sehr differente physikalische, chemische und auch immunologische Eigenschaften. Darüber hinaus sind Immunkomplexe vielfältig biologisch aktiv. Immunkomplexe können löslich sein, sich im Gewebe ablagern - z. B. an Zell- und Basalmembranen -, und sie können der Phagozytose und der Digestion unterliegen.

Immunkomplexe entstehen im Rahmen physiologischer Abwehrfunktionen und tragen zur Integrität eines Organismus bei. Unter bestimmten Umständen können sie pathogenetisch wirksam werden. Das ist besonders dann anzunehmen, wenn ihre Elimination unterbleibt, wenn sie im Blut persistieren und wenn sie sich an Zellen oder im Gewebe ablagern und ihre biologische Aktivität entfalten. Während über gewebsabgelagerte Immunkomplexe seit längerem Kenntnisse bestehen - vor allem durch immunfluoreszenzmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchungen - sind die Erfahrungen mit löslichen, d. h. im Blut zirkulierenden Immunkomplexen jünger, im folgenden in Anlehnung an den internationalen Sprachgebrauch als CIC abgekuert. Wegen der fortwährenden Elimination von Immunkomplexen durch das phagozytierende System und der Penetration von Antigen, Antikörpern und/oder möglicherweise auch Immunkomplexen aus dem Blutplasma in den extravasalen Raum oder auch umgekehrt wird die Bestimmung von Immunkomplexen im Blutplasma oder im Blutserum im besten Falle nur eine Augenblickssituation eines sich stetig ändernden Gleichgewichtes widerspiegeln können. Konsequenterweise sollten Verlaufsuntersuchungen anzustreben sein, mit deren Hilfe ein Zusammenhang zwischen wechselndem klinischem Befund des Patienten und der Anzahl der im Blut nachgewiesenen Immunkomplexen erkannt werden könnte. Diese Verlaufsuntersuchungen in Abhängigkeit vom klinischen Befund ist um so mehr zu fordern, als Immunkomplexe auch bei klinisch Gesunden fortlaufend im Zuge der Elimination von verschiedenen Antigenen wie beispielsweise von Infektionserregern oder möglicherweise zur Immunregulation wie in der Schwangerschaft auftreten (52,93,192,194).

Es sind eine grosse Anzahl von Methoden zur Bestimmung von CIC beschrieben worden (108,139,155,89,7,132,66) Ihre Zahl liegt bei ueber 30. Der groesste Teil dieser Methoden fusst auf der Tatsache, dass sich Immunkomplexe durch ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften wie Molekulargewicht oder Loeslichkeit, oder durch biologisch Parameter wie Bindung des Immunglobulinanteils in den Immunkomplexen an Komplementfaktoren, Rheumafaktoren, oder an Zelloberflaechenrezeptoren von anderen geloesten Substanzen im Blutplasma unterscheiden. Diese Reaktionen sind in unterschiedlicher Weise und mit unterschiedlichem Erfolg benutzt worden, um Immunkomplexe - gleich welcher Art - nicht antigenspezifisch zu diagnostizieren. Nur in Ausnahmefaelen wurden einzelne Methoden fuer die Bestimmung des Antigens in den Immunkomplexen modifiziert oder erweitert.

Deren Anwendung duerfte in Zukunft eine Bereicherung zumindest bei der Diagnose einiger Infektionskrankheiten darstellen. In Anbetracht der ueberschaubaren Anzahl unterschiedlicher Antigene, welche Immunkomplexe verursachen, wird eine antigenspezifische Immunkomplexbestimmungsmethode jedoch nur bei solchen Erkrankungen anzuwenden sein, bei welchen das Antigen bekannt und serologisch erfassbar ist. Alle anderen Immunkomplexerkrankungen duerften nur mit Hilfe von treffsicheren nicht antigenspezifischen Suchtests erfasst werden. Im folgenden sollen sowohl die wesentlichen nicht antigenspezifischen Immunkomplexbestimmungsmethoden, als auch die Moeglichkeiten, antigenspezifisch Immunkomplexe zu erfassen, kurz vorgestellt und ihre diagnostische Relevanz, soweit derzeit beurteilbar, diskutiert werden (194).

4.1.1. Nicht antigenspezifische Methoden

Die bekanntesten nicht antigenspezifischen Methoden zum Nachweis und/ oder zur Isolierung von Immunkomplexen sind grundsaeztlich zu gliedern in physikalisch-chemische Methoden, die Groessen- oder Loeslichkeitsunterschiede zwischen Immunkomplexen und den uebrigen Plasmaproteinen zur Bestimmung oder Isolierung ausnutzen und in Methoden, bei welchen Immunkomplexe durch Reaktion der beteiligten Antikoerper mit sog. Fc-Reaktanten, zu denen Antikoerper und Komplementfaktoren gehoeren oder durch Reaktion mit Konglutinin oder durch Bindung an spezifische Membranstrukturen auf unterschiedlichen Zellen (wie Lymphozyten, Makrophagen oder Granulozyten) nachgewiesen werden koennen (192).

4.1.1.1. Physikalisch-chemische Methoden

Molekulargewicht, Löslichkeit und Ladung sind Parameter, mit deren Hilfe Immunkomplexe von dem zugehörigen Antigen und Antikörper abgetrennt werden können, was grundsätzlich eine Immunkomplexbestimmung ermöglichen sollte. Es ergeben sich jedoch sofort Schwierigkeiten, wenn Proteine ähnlicher Eigenschaft wie z. B. Antikörperaggregate, Paraproteine und andere Makromoleküle in der zu untersuchenden Flüssigkeit vorhanden sind. Erschwerend kommt hinzu, dass die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Immunkomplexe nicht nur von der Menge und der Klasse des gebundenen Antikörpers, sondern auch von der Art und der Menge des beteiligten Antigens abhängen und deswegen keine Konstanz aufweisen. Physikalisch-chemische Methoden können somit nicht als spezifische Immunkomplexbestimmungsmethoden angesehen werden.

Abbildung 31 gibt eine Übersicht über die nicht antigenspezifischen physikalisch-chemischen Methoden der CIC-Darstellung.

Da CIC einen höheren Sedimentationskoeffizienten als monomere Proteine haben, lassen sie sich mittels Ultrazentrifugation darstellen (78,17,142,8). Die Methode ist unsensibel und nur bei grossen CIC-Mengen anwendbar, dann aber auch als erster Schritt zur CIC-Isolierung für eine Analyse der Komponenten geeignet. Man kann CIC auch durch Säulenchromatographie - z. B. über Sepharose 4B - aus dem Serum abtrennen. Sensibilität und Spezifität dieses Verfahrens entsprechen etwa denen der Ultrazentrifugation (139,124), säulenchromatographische Fraktionen sind wiederum sehr gut zur CIC-Analyse geeignet (56). Eine weitere sehr einfache Methode der CIC-Darstellung beruht auf der Kryopraezipitatbildung, d. h. auf der Praezipitation bei kalten Temperaturen (13,158).

Physikalische Methoden lassen auch eine CIC-Abtrennung nach Koppelung der CIC an Komplement, etwa C3, zu, da CIC-C3 schwerer als freies ist (Heavy C3 test) (162).

Immunkomplexe sind relativ spezifisch präzipitierbar durch Polyäthylenglykol (PEG), wenn Endkonzentrationen zwischen 2,5 und 4 % und ein Molekulargewicht des PEG von 6000 verwendet werden (139,32). Die Analyse der PEG-Praezipitate lässt dann CIC-Komponenten erkennen (139,32), oder Marker können im PEG-Praezipitat gemessen werden, die zuvor an die CIC gekoppelt worden sind, wie z. B. radiojodiertes Komplement C1q (139,162).

Die durch PEG-Zusatz zum CIC-haltigen Serum entstehende Trübung lässt sich turbidimetrisch mit Hilfe eines Photometers (178,191) oder Laserphelometrisch (181, 200, 182) messen. Die Sensibilität dieser Methode ist ausserordentlich hoch, allerdings ist die Spezifität so lange als gering zu betrachten, wie die Analyse der CIC-Komponenten nicht erfolgt (27).

Abb. 31 Nicht antigenspezifische Methode zum Nachweis von CIC
basierend auf physikalisch-chemischen Eigenschaften der CIC

1. Nachweis auf Grund der molekularen Groesse der CIC

Analytische Ultrazentrifugation (39,78)

Praeparative Trennung von makromolekularen Aggregaten

Saccharose Gradient Ultrazentrifugation(78) kombiniert mit immuno-
Gelfiltration(156) chemischer Analyse oder

Ultrafiltration der Benutzung von radio
Immunogelfiltration(157) markierten Markern

2. Nachweis auf Grund der Loeslichkeit von CIC

Kryopraezipitation (13,31)

kombiniert mit immuno-
chemischer Analyse

Praezipitation in PEG (32,170)

Praezipitation von Ig, C1q oder C4 in PEG (48,169)

Praezipitation des Protein A von Staphylo-
coccus aureus in PEG nach Abtrennung von
monomeren IgG (167,107,53)

**4.1.1.2. Biologische Methode, nicht spezifisch fuer das Antigen,
zum Nachweis von Immunkomplexen**

Bei biologischen Methoden zum Nachweis von Immunkomplexen werden entweder natuerlich vorkommende Proteine, oder geeignete Zellen benutzt (167,107). Beide Moeglichkeiten beruhen auf dem Phaenomen, dass bei Bindung von Antikoerpern an ein Antigen bzw. an dessen antigene Determinanten entweder eine sterische Veraenderung im Fc-Teil des Antikoerpermolekuels und/oder eine lokale Erhoehung der Dichte von Fc-Teilen dieser Antikoerper stattfinden. Dieses wiederum ermoeeglicht eine Bindung des Komplementfaktors C1q mit nachfolgender Aktivierung des Komplementsystems, eine Anlagerung des Komplementfaktors C3b, eine Reaktion mit entsprechend spezifischen Anti-Immunglobulin-Antikoerpern oder aber eine Bindung an Zellen, an deren Membran Rezeptoren fuer das Fc-Teil des Antikoerpers, fuer C3b und/oder fuer C1q vorhanden sind (133). Da bekannt ist, dass in Immunglobulinaggregaten aehnliche Veraenderungen des Fc-Teil auftreten wie bei Antikoerpern in Immunkomplexen, und dass desweiteren derartige Immunglobulinaggregate im Serum spontan, durch Temperatur (Einfrieren und Auftauen, Erhitzen) oder auch durch mechanische Einfluesse auftreten (134), stellen diese Aggregate eine wesentliche Fehlerquelle bei dem Nachweis von CIC mit biologischen Methoden dar. Dennoch haben einige dieser Methoden aufgrund der einfachen Durchfuehrung und ihrer verhaeltnismaessig grossen Empfindlichkeit bereits Eingang in die Praxis gefunden. Vergleichende Untersuchungen an Patienten mit Symptomen der Immunkomplexerkrankung unterschiedlicher Genese (Autoimmunerkrankungen, bakterielle, virale und parasitaere Infektionen) zeigten jedoch, dass keine der bislang etablierten biologischen Methoden als optimale Suchmethode herausragt (80). Da sich die positiven Ergebnisse, erhalten mit den einzelnen Methoden und bezogen auf die einzelnen Krankheitsbilder ueberlappen, wurde als Konsequenz die Empfehlung ausgesprochen, bei der mehr oder weniger sicheren Diagnose von Immunkomplexen mit biologischen Methoden sich nicht auf eine Methode zu beschaerzen, sondern grundsaeztlich mehrere biologische Methoden mit unterschiedlichen Prinzipien anzuwenden (80).

Abbildung 32 gibt eine Uebersicht ueber die nicht antigenspezifischen Methoden zur CIC-Bestimmung mittels biologischer Parameter

Reaktionen von CIC mit einem Bruchstueck der ersten Komplementkomponente C1q haben sich bei C1q-bindenden CIC zur Bestimmung bewaehrt: als Agargeldiffusion (1), 125J-C1q-Bindung mit anschliessender PEG-Präzipitation (139,109) und als 125J-C1q-Verdraengung aus einer anschliessenden Bindung an 7S-IgG sensibilisierte Schafergythrozyten (C1q-Deviationstest=Ablenkungstest)(139,137). Allerdings muessen Membran-ablagerungen von Komplement (161), Komplementbildungsstoerungen (128) usw. als Stoerfaktoren beruecksichtigt werden. Daneben sind unspezifische C1q-Bindungen an aggregiertes IgG, DNA, Endotoxine und anionische Substanzen wie z. B. Heparin auszuschliessen (139,165,167,107). Alle Immunkomplexbestimmungsmethoden unter Zuhilfenahme von C1q koennen nur solche Immunkomplexe nachweisen, die Antikoerper enthalten, welche C1q binden und damit Komplement ueber den klassischen Weg aktivieren. Andere moeglicherweise ebenso pathogene Immunkomplexe werden nicht erfasst. Diejenigen, welche Komplement ueber den alternativen Weg aktivieren koennen, wurden mit Methoden zur Ermittlung der Bindung des sowohl ueber den klassischen als auch ueber den alternativen Weg aktivierbaren Komplementfaktors C3 mitbestimmt.

Eine weitere Methode zur Bestimmung von CIC beruht auf der Reaktion mit monoklonalem Rheumafaktor (125,163,45). Die Rheumafaktor-Reaktion kann als Kapillarpraecipitation, als monoklonaler Rh-F-Bindungs-Inhibitions-Test, als einfacher Bindungs-Inhibitions-Test und als polyklonaler Rh-F-Agglutinations- oder RIA-Hemmtest erfolgen (9). Ein weiteres Molekuel, dass Antigen-Antikoerperkomplexe von nicht komplexierten Antigenen und Antikoerpem zu unterscheiden vermag, ist neben dem C1q und dem Rh-Faktor das Konglutinin, das Bindungs-kapazitaet fuer C3-Fragmente besitzt, die spezifisch sind. Der Gebrauch Konglutinin-beladener Plastikroehrchen erlaubt die Durchfuehrung eines relativ einfachen solid-phase-tests (79,20,37).

Auch Zelloberflaechen-Rezeptoren ebnen einen Zugang zu CIC. CIC binden sich an Rezeptoren Lymphoblastoider Zellen, die sich in Dauerkultur halten lassen. Der darauf aufbauende Raji-Zell-Test ist verbreitet (149,150,65), er hat sich in vergleichenden Untersuchungen als hoechst empfindlich erwiesen. Parallel wurde der Fc-Rezeptor-Test entwickelt (68).

Eine weitere Zellmethode ist der Lymphozyten-Rosettenbildungs-Inhibitions-Test, bei dem die CIC kompetetiv ueber C3 vermittelte Bindung sensibilisierter Erythrozyten an B-Lymphozyten hemmen. Thrombozyten besitzen Fc-Rezeptoren und agglutinieren in Gegenwart von CIC. Darauf wurde ein sehr sensibler, allerdings nicht sehr spezifischer Test aufgebaut (101,115).

Die Aufnahme radioaktiv markierten aggregierten IgG durch CIC ist die Basis eines weiteren Tests (111,75).

Allen Methoden gemeinsam ist, dass Immunkomplexe nicht von Immunglobulin-aggregaten zu unterscheiden, die Testungen somit nicht spezifisch fuer Immunkomplexe sind.

Abb. 32 Nicht antigenspezifische Methode zum Nachweis von CIC
mittels biologischer Eigenschaften von Immunkomplexen

-
1. Erkennung von CIC im zellfreien System
 - 1.1. Interaktion mit Komplement
 - a) Komplement und C1q-Ablenkungstest
antikomplementäre Wirkung (70,103)
C1q-Ablenkungstest (137)
C1q-Inhibitions-Test (41)
C1q-Latex-Agglutinations-Test (85)
 - b) direkte Bestimmung der C1q-Immunkomplex-Interaktion
C1q-Agarose-Präzipitationstest (1)
C1q-Bindungstest (168)
solid-phase C1q-Bindungstest (57,2)
 - 1.2. Interaktion mit Konglutinin
solid-phase Konglutinin-Bindungstest (20,37)
 - 1.3. Interaktion mit Antiimmunglobulin: monoklonale (mRF) oder polyklonale (pRF) Rheuma-Faktoren (RF) oder Antikörper
mRF-Agarose-Präzipitationstest (163)
solid-phase mRF-Inhibitionstest (86)
pRF-Inhibitionstest (30)
mRF-Inhibitionstest (41)
pRF-Latex-Agglutinations-Inhibitionstest (85)
Anti-Antikörper-Inhibitionstest (72)
 2. Bestimmung von Immunkomplexen durch Rezeptoren an Zelloberflächen
 - 2.1. Interaktion mit Fc-Rezeptoren auf Zelloberflächen
Platelet-Aggregationstest (101)
Hemmung der Antikörper-abhängigen zellvermittelten Zytotoxizität (124)
Makrophagen-Aufnahme-Inhibitionstest (97)
Neutrophilen-Inhibitionstest (80)
Neutrophilen-abhängiger-Erythrozyten-bräunungs-Test (80)
Nachweis von Immunglobulin-phagozytose durch Neutrophile (143)
Lymphozyten-Rosettenbildungs-Inhibitions-Test (98)
 - 2.2. Interaktion mit Komplement-Rezeptoren auf Zelloberflächen
Raji-Zell-Test (150)
Lymphocyten-Komplement-Rosettenbildungs-Inhibitions-Test (136)
-

4.1.3. Immunkomplexbestimmungsmethoden spezifisch für das Antigen

Das bestmögliche Verfahren zum CIC-Nachweis kann heute nur für die Fäule benannt werden, in denen das in den CIC enthaltene Antigen bekannt ist. Die ersten antigenspezifischen Nachweismethoden sind für HBs-Antigen-haltige CIC angegeben worden. Sie lassen sich als liquid oder solid phase tests durchführen und gehen von mit spezifischen Antikörpern tierischer Herkunft beschickten Reaktionsgefäßen aus, in denen die CIC an ihrem Antigen-Teil gebunden werden, so dass ihre Antikörper, die humanes Fragment enthalten, mittels ELISA-Technik bestimmt werden können (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay) (119,118,117). Oder sie benutzen Fab von spezifischen Antikörpern zur CIC-Bindung (77). Diese Methoden haben sich bereits in klinischen Untersuchungen bewährt (119). Zuletzt darf nicht vergessen werden, dass elektronenmikroskopische Untersuchungen von pellets zentrifugierter Seren bereits seit längerem zur Suche nach CIC durchgeführt werden (4).

4.1.4. Probleme der CIC-Methoden

4.1.4.1. Heterogenitaet der CIC

Wegen der Heterogenitaet der vorkommenden CIC, bedingt durch die Art des Antigens, des Antikoerpers, das Antigen-Antikoerper-Mengenverhaeltniss, durch die unterschiedliche Affinitaet in der Antigen-Antikoerper-Bindung und durch die differenzierte Bindungsfahigkeit der Antigen-Antikoerper-Komplexe, z. B. fuer bestimmte Komplementfraktionen, gibt es bis heute nicht eine Nachweismethode schlechthin. Die unterschiedlichen Methoden sind nicht nur unter sich selbst verschieden sensibel und spezifisch, sondern weisen auch gegeneber unterschiedlichen CIC eine Variabilitaet der Spezifitaet und der Sensibilitaet innerhalb eines bestimmten Tests auf. Die meisten Methoden sind relativ unsensibel gegeneber kleinen CIC (unter 19S) und gegeneber CIC, die sich unter Antigenueberschuss gebildet haben (194).

Abbildung 33 gibt eine Uebersicht fuer die Gruende der Heterogenitaet.

4.1.4.2. Standardisierung

Wegen dem Mangel an geeigneten, allgemein anerkannten Standard-Test-CIC ist es schwierig die verschiedenen Methoden direkt zu vergleichen. Als Standard benutzt man hitzeaggregiertes IgG, DNA oder synthetische CIC aus bekannten Antigenen und Antikoerpern. Die Schwierigkeit liegt darin, dass jede CIC-Methode auf einer Eigenschaft des CIC beruht.

Abb. 33 Bedingungen der Heterogenitaet von CIC

Molekulargroesse, Molekulargewicht, elektrisch Ladung

Verschiedenheit der Antigene

Antikoerper verschiedener Immunglobulinklassen und unterschiedlicher Spezifitaet

Antigen-Antikoerper-Mengenverhaeltniss (Komplexe im Antigen- oder im Antikoerperueberschuss)

Antigen-Antikoerper-Affinitaet

Bindungsfahigkeit der Komplexe fuer bestimmte Substanzen, z. B. fuer Komplementfraktionen (C1q u. a.)

Bindungsfahigkeit der Komplexe an bestimmte Rezeptoren, z. B. Lymphozyten-/Lymphblasten-Oberflaechen (Fc-Rezeptor u. a.) (194)

4.1.5. Der 125J-C1q-Ablenkungstest

In dieser Arbeit wurde der 125J-C1q-Ablenkungstest zur Bestimmung von zirkulierenden Immunkomplexen im Serum in enger Anlehnung an die Originalmethode von Sobel, Bokisch und Mueller-Eberhard gewaehlt (137).

Die Vorteile dieses Tests sind:

- a) die Moeglichkeit, quantitative Aussagen zu machen
- b) die grosse Empfindlichkeit, die Nachweisgrenze fuer aggregiertes IgG liegt bei 5 ul/ml
- c) die Testmethode ist spezifisch fuer komplementbindende Immunkomplexe mit IgG1, IgG2, IgG3 und IgM als beteiligtem Antikoerper (IgG4 bindet kein Komplement).

4.2. Zusammensetzung von Immunkomplexen und ihre Bedeutung fuer die Pathogenitaet

In vivo ist das Schicksal und die Wirkung von CIC direkt abhaengig von der Lage (extravaskulaer, intravaskulaer) der CIC, von der Art des Antigens und des Antikoerpers und ebenso von ihrer Konzentration. Als Antigene Bestandteile von Immunkomplexen koennen gefunden werden:

- a) infektiuese Antigene (Viren, Bakterien)
- b) Tumorantigene (Melanomantigene, Kryoglobulin)
- c) Nahrungsmittelantigene (Rinderalbumin, Gluten, Milchproteine)
- d) Autoantigene:
 - 1) DNA, RNA (z. B. beim systemischen Lupus Erythematodes, bei Sklerodermie und bei idiopathischer thrombopenischer Purpura)
 - 2) IgG (z. B. bei primaerer chronischer Polyarthrit)
- e) Medikamente:
 - z. B. Insulin, Chinidin, Chinin, Phenacetin, Penicillin, Sulfonamide, Diphenylhydantoin, Chlorpromacin u. a.

(Lit. 92,127,130)

Die meisten der CIC, die im zirkulierenden Blut auftauchen, werden sehr schnell vom mononukleären phagozytierenden System, speziell den Kupfferschen Sternzellen (90,160) beseitigt. Nur relativ kleine CIC koennen fuer einige Zeit bestehen bleiben. Die Beseitigung von CIC koennte ein physiologischer Mechanismus fuer die schnelle Beseitigung von Antigen sein. Unter gewissen Bedingungen lagern sich kleine Mengen von CIC an Gefaessen oder an Filtermembranen wie z. B. Nierenglomerulie oder im Plexus choroidales (26,34,110) ab. CIC, die im extravasalen Raum gebildet werden, werden nicht so schnell beseitigt und koennen lokale Entzuendungserscheinungen hervorrufen. Die pathologischen Konsequenzen haengen von der Konzentration, der Persistenz und der Chronizitaet der Erscheinung der CIC ab. Obwohl das Hervorrufen von Entzuendungsreaktionen durch CIC allgemein als die Hauptkonsequenz betrachtet wird, koennte doch die Beeinflussung der Immunmechanismen durch CIC und die Hemmung einiger spezifischer Zellfunktionen eine hoechst wichtige Bedeutung bei einigen Krankheiten besitzen (167).

4.3. Ursachen fuer die Entstehung und Persistenz von CIC

- a) Mangel an "clearance-Mechanismen", d. h. Blockade des RES (reticulo-endothelialen Systems). Normalerweise werden Immunkomplexe von Makrophagen und Granulozyten phagozytiert. Die Phagozytose wird vom Komplementsystem, das eine opsonierende Wirkung hat, induziert. Glukokortikoide unterdruecken die Makrophagenaktivitaet und fuehren somit zur Persistenz von CIC im Serum (51,92,127).
- b) Mangel an Antikoerpern:

Zur raschen Elimination muessen die Immunkomplexe eine bestimmte Mindestgroesse aufweisen, welche fuer die Aufnahme in das RES wichtig ist. Nicht der Fall ist dies,

- 1) bei Antigenueberschuss
bei Immunmangelkrankheiten, bei denen haeufig Bindegewebskrankungen auftreten, wobei man im Serum CIC finden kann.
Antigenueberschuss kann auch bei massiven Infektionen auftreten.
- 2) wenn das Antigen zu wenig Determinanten traegt. In diesem Fall wird die Ausbildung netzfoermiger Verbindungen erschwert, die Komplexe bleiben zu klein und erreichen nicht die kritische Mindestgroesse.
- 3) bei zu geringer Affinitaet des Antikoerpers;
dies ist warscheinlich der haeufigste Grund fuer immunkomplexinduzierte Erkrankungen (51,92,127,74,141).

4.4. Vorkommen von CIC bei Erkrankungen

Schon in den 50-er Jahren beschrieb man, dass CIC die Serumkrankheit auslösen (43,44,35), was durch neuere Studien bestätigt wurde (105). Ähnlich wie Serumgaben können unter bestimmten Umständen Medikamente (102), Insulin (5,23), bei IgA-defizienten Patienten Nahrungsmittel (33) und Nierentransplantate (154,94) wirken. Der Panarteriitis scheinen ähnliche Mechanismen wie der Serumkrankheit zugrunde zu liegen, da auch bei ihr gehäuft CIC gefunden werden. Gelegentlich wird die Panarteriitis als Komplikation einer Virushepatitis angetroffen (91), wobei dann Hepatitis-B-Antigen-haltige CIC gefunden werden können (139,64). Es ist noch nicht völlig geklärt, ob der pathogenetische Mechanismus bei Streptokokkeninfektionen mit CIC ebenfalls ähnlich ist (122). Bei Glomerulonephritiden werden jedenfalls mit grosser Regelmässigkeit CIC angetroffen (9,83,46,121,15) auch dann, wenn die Glomerulonephritis als Komplikation einer Virushepatitis B auftrat (28,73,14,145). CIC wurden häufig bei Erkrankungen mit Autoimmuncharakter gefunden und mit der Pathogenese in Zusammenhang gebracht. Das trifft besonders für die sogenannten Kollagenosen zu, wie z. B. für die rheumatoide Arthritis (58,69,147,54), die "mixed connective tissue disease" (55) und die ankylosierende Spondylitis (40,81), in ganz besonderer Weise auch für den systemischen Lupus erythematoses (109,76,63,112,113). CIC sind auch häufig bei Erkrankungen mit letztlich noch unklarer Ätiologie, in deren Zusammenhang Autoimmunphänomene diskutiert werden, beobachtet worden, wie z. B. bei der Colitis ulcerosa und dem Morbus Crohn (62,104), bei verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen (12), bei der multiplen Sklerose (144) und bei Morbus Behçet (82,87). Auch sind viele Hauterkrankungen mit dem Auftreten von CIC assoziiert (76,166,164), besonders die Dermatitis herpetiformis (100). Bei Infektionserkrankungen sind CIC beschrieben worden: unter den virusbedingten Infektionen ist hier neben der Mononukleose (18) und der Influenza (135) vor allem die Virushepatitis zu nennen; besonders für die Hepatitis B existieren umfangreiche Studien (139,27,65,77,4,153,106,138,42,88,71,47,120,21,116,19). Eine besondere Rolle scheinen CIC auch bei Malignompatienten zu spielen, wo sie häufig mit der Aktivität der Erkrankung und z. B. Rezidiven parallel gehen, möglicherweise sogar der Tumorausbreitung vorausgehen und sie in einer Eigenschaft als "blocking factors" vorbereiten: CIC sind bei verschiedenen Karzinomen und Sarkomen (22,67,123,10,50), besonders genau beim Bronchialkarzinom (56) und bei malignen Lymphomen (140,59,24,151,60) beschrieben worden.

4.5. Moegliche Bedeutung von CIC bei malignen Melanomen (MM)

Viele neue Untersuchungsmethoden wurden eingesetzt, um die Immunmechanismen, die bei malignen Melanomen offensichtlich eine grosse Rolle spielen, zu untersuchen (148). In dieser Arbeit geschah dies durch Anwendung des 125J-C1q-Ablenkungstests bei 30 Patienten mit MM. 18 der 30 Patienten zeigten eine z. T. hohe C1q-Abl. mit einem Mittelwert, der sich hoch signifikant von dem gesunder Spender unterschied. Beim Vergleich der C1q-Ablenkung mit dem Stadium, bzw. dem Level nach Clark, konnte in der vorliegenden Arbeit keine Beziehung zwischen der Schwere der Krankheit und der C1q-Abl. festgestellt werden. Bei 4 Patienten mit MM mit Metastasen zeigte nur ein Patient eine hohe C1q-Abl., waehrend die anderen 3 Seren negativ oder grenzwertig positiv waren.

Da man eine positive Beeinflussung der Abwehrlage und damit eine Anhebung der Antikoerperspiegel von der chirurgischen Therapie der MM erwartete, wurden bei 5 Patienten mit MM Verlaufskontrollen vorgenommen (61,96,99).

Ausgangspunkt war die Vorstellung, dass eine moeglichst radikale Reduzierung der Tumormasse das Gleichgewicht zugunsten der Immunreaktion verschieben und den Koerper in die Lage versetzen koennte, mit den verbleibenden malignen Zellen selber fertig zu werden.

Untersuchungen an Mausen, im Anschluss an die operative Entfernung eines B 16-Maeusemelanoms, liessen Antikoerperanstiege um den 12. Tag nach dem Eingriff erkennen (131). Aehnliches zeigten die Verlaufsuntersuchungen von Canevari (16) an 13 Melanompatienten. Er beobachtete Immunkomplexbildungen 7 - 10 Tage nach der radikalen Entfernung des Tumors, die sich bei Ausbleiben eines Rezidives wieder zurueckbildeten. Entsprechend diesem Ergebnis wurde die Versuchsanordnung gewaehlt.

1, 3 und 8 Wochen nach der Operation wurde das Serum von 5 Patienten mit MM nach CIC untersucht.

In zwei Seren liess sich ein gewisser Abfall der C1q-Abl. feststellen, waehrend bei den anderen Seren nur minimale Veraenderungen zu verzeichnen waren.

Jetzt, 2 Jahre nach der damaligen Untersuchung mit der C1q-Methode befinden sich diese 5 Patienten immer noch unter sorgfaeltiger Beobachtung. Alle 5 Patienten sind wohlauf, bei keinem wurden neue Metastasen festgestellt. Somit konnten zumindest bei diesen 5 Patienten weder ein Ansteigen noch ein Absinken der Hoehe der C1q-Ablenkung bzw. des Melanomantikoerpertiters als ein Anzeichen einer Ausbreitung der Krankheit gedeutet werden.

Da bei diesen 5 Patienten sowohl Verlaufskontrollen mit dem C1q-Ablenkungstest als auch mit Melanomantikoerpertiter durchgefuehrt wurden (36), boten sich die Ergebnisse zum Vergleich an. Es konnte aber keine Beziehung zwischen den beiden Bestimmungsmethoden gefunden werden.

Dass es sehr auf die Methode ankommt, mit der man Immunkomplexe nachweist, laesst sich daran ersehen, dass T. H. The (198a) bei 65 Patienten mit MM zu gaenzlich anderen Ergebnissen kam. Er untersuchte Immunkomplexe von polymorphkernigen Leukozyten von Patienten mit MM nach IgG- und Komplementeinschlüssen. Gruppe (a) die nach der chirurgischen Therapie tumorfrei war, zeigte einen mittleren IgG-Wert von 17, der sich von der Kontrollgruppe (Wert= 10) nicht signifikant unterschied. Die tumortragende Gruppe (b) zeigte einen signifikant hoeheren Wert (=20). Nach einer Unterteilung der Gruppe (a) zeigte sich, dass die Patienten mit einem invasiv wachsenden Melanom mit schlechter Prognose einen signifikant hoeheren Wert (=25) aufwiesen, als Patienten mit SSH mit guter Prognose, die sich nicht von den Kontrollgruppen unterschieden. Nach Unterteilung der Gruppe (b) in Patienten mit lokaler Erkrankung (Wert=12) und Patienten mit regionaler Lymphknotenbeteiligung bzw. Metastasen ergab sich ein signifikant erhoehter Wert von 69 bzw. 24. Zudem wiesen 6 von 16 Patienten nach chirurgischer Therapie einen Abfall der Einschlüsse in den polymorphkernigen Leukozyten auf. Da diese Ergebnisse mit einer Methode erlangt wurden, die an Empfindlichkeit und Spezifitaet der J-125-C1q-Ablenkung unterlegen ist (80), sollte man sie nur sehr skeptisch und unter Vorbehalt betrachten.

Bei Neoplasien gewinnt die Beobachtung, dass Immunkomplexe einen die Immunabwehr blockierenden Effekt besitzen, immer mehr an Bedeutung (11,49). Vermutet wird die Bindung von Immunkomplexen an die T-Lymphozyten. Diskutiert werden

- a) eine Blockade der T-Zell-Helferfunktion bei der immunologischen Tumorabwehr
- b) eine Aktivierung von Suppressor-T-Lymphozyten durch das Vorhandensein von CIC (146,149).

Untersuchungen an Seren von Tumorpatienten waeren auusserst interessant, wenn man das beteiligte Antigen identifizieren koennte. Es koennte sich bei dem Antigen um eine Substanz handeln, welche von den Tumorzellen gebildet und an das Serum abgegeben wird und eventuell fuer verschiedene Tumoren charakteristisch ist (92,114).

Mit Hilfe der isolierten Immunkomplexe koennten spezifische Antiseren gegen die Antigene hergestellt werden, die fuer die Krebsdiagnostik und -nachsorge von hohem Wert waeren (92). So berichtet z. B. K. Robert McIntire, dass mit Hilfe von radioaktiven Antikoerpern gegen Tumorantigene unter klinischen Bedingungen die Lokalisation von Metastasen nachgewiesen wurde. Nicht nur in der Lokalisation, sondern auch der Prognose von Krebs wuerden somit die Tumor Marker Bedeutung gewinnen (z. B. : sind schon Metastasen in der Leber vorhanden?). Ganz zu schweigen von den Moeglichkeiten der Ueberwachung des Verlaufes von Neoplasien (Monitoring) und des Stagings (187a).

In den Nierenglomeruli von Mausem fand Pascal (114) Immunkomplexablagerungen. Es stellte sich heraus, dass der Antigenbestandteil der Komplexe von dem Virus abstammte, der fuer die Tumorentwicklung verantwortlich gemacht wurde. Vielleicht wird es in Zukunft moeglich sein, durch Isolierung von Immunkomplexen aus dem Serum von Tumorpatienten bestimmte Tumoren besser zu charakterisieren (92).

4.6. Moegliche Bedeutung von CIC beim Naevus Sutton

Es herrscht allgemeine Uebereinstimmung darueber, dass MM auf dem Boden von pigmentierten Naevi entstehen koennen, und dass die Anzahl solcher pigmentierter Muttermale im Laufe des Lebens variiert (129). Sie treten fuer gewoehnlich in der Kindheit auf und bilden sich im mittleren Alter wieder zurueck (84). Fuer die besondere Form eines dieser Naevi praegte Sutton den Begriff des "Leukoderma acquisitum centrifugum". Er beschreibt damit einen zentral pigmentierten Tumor der Haut, der von einem weissen, depigmentierten Areal umgeben ist und wegen dieses Hofes auch gern als Halonaevus bezeichnet wird. Ueber die Bedeutung und Pathogenese dieser Laesion wurde viel diskutiert, vor allem, weil mit der Ausbildung des Halo auf der normalen umgebenden Haut meist eine spontane Regression des Naevus einhergeht. Copeman (29) folgerte daraus, dass es sich beim Halonaevus um die besondere Art eines selbstheilenden melanotischen Muttermals handelt. Es gelang ihm auch, Antikoerper gegen das Zytoplasma maligner Melanomzellen im Serum von 15 Patienten mit sich in Regression befindlichen Halonaevi nachzuweisen. Roenigk (126) konnte diese Ergebnisse bei Anwendung der gleichen Technik und in zusaetzlichen Untersuchungen mit Hilfe des Mikrozytotoxizitaetstests weitgehend bestaetigen. Er bewies humorale Antikoerper in 5 von 11 Faellen.

In dieser Arbeit wurde bei Patienten mit Naevus Sutton das Serum nach CIC untersucht. In beiden Faellen ergab sich eine C1q-Ablenkung, wobei ein Serum grenzwertig negativ, das andere Serum signifikant positiv war.

Ob das Auftreten von CIC auf eine Abstossungsreaktion des Koerpers gegenueber dem benignen Sutton Naevus schliessen laesst ist unklar, wurde aber mit der haeufig zu beobachtenden Regression und dem ploetzlichen Verschwinden solcher Laesionen uebereinstimmen. Copeman aeusserte die Vermutung, dass es sich beim Naevus Sutton um die selten gesehene Interimsphase einer fruehen Abstossungsreaktion des in Entartung begriffenen Gewebes handelt. Der Vorgang stellt damit die uebersteigerte Form einer natuerlichen Immunabwehr dar, im Laufe welcher nicht nur ein paar veraenderte Zellen, sondern die gesamte Naevustumormasse eine Abstossungsreaktion hervorruft (29).

4.7. Moegliche Bedeutung von CIC bei Vasektomie

Vasektomie schien eine fast ideale Form der Empfängnisverhütung zu sein. Der Eingriff kann ambulant durchgeführt werden, ohne das die Peritonealhöhle eröffnet wird. Der Erfolg des Eingriffs lässt sich leicht durch ein Spermogramm überprüfen. Zudem ist der Eingriff in gewissen Fällen reversibel. Aus diesen Gründen ist die Vasektomie ein weitverbreitetes Verfahren in Nordamerika geworden. Diese Zustimmung basierte, wie auch immer, auf der fälschlicherweise optimistischen Einschätzung des damit verbundenen Risikos. Neuere Hinweise sprechen dafür, dass Vasektomie bei Tierversuchen zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit an Atherosklerose in gewissen Gefäßen führt (3). Dabei wird folgender pathophysiologischer Mechanismus zugrunde gelegt: Alexander stellte fest, dass bei Menschen und Säugetieren nach Vasektomie in 50 % der Fälle Antikörper gegen Spermien oder deren Abbauprodukte auftreten. Dies bedeutet, dass durch die Unterbindung des Vas deferens Spermien oder ihre Abbauprodukte in den Kreislauf gelangen. Der Organismus reagiert mit einer Immunantwort gegen das Spermiumantigen, da normalerweise Spermien dem Zugriff des Immunsystems nicht zugänglich sind und somit als körperfremd betrachtet werden (159). Ein plausibler Mechanismus um den Gefäßschaden zu erklären wäre eine Immunkomplexvaskulitis gefolgt von einer Schädigung des Endothels der Gefäße mit einer nachfolgenden Plaques-Ablagerung (25). Bei der Autopsie der Versuchstiere kontrollierten Clarkson und Alexander (25) den Anti-Sperma-Antikörper-Titer und untersuchten zahlreiche Arterien nach Atherosklerose. Interessanterweise ergab sich eine umgekehrte Korrelation zwischen Antikörper-Titer und Atherosklerose. Es wurde spekuliert, ob die negativ ausgefallenen Seren nicht einfach Antigen im Überschuss enthalten und somit doch CIC enthalten könnten, die dann fähig wären, sich am Gefäßendothel niederzuschlagen und Schädigungen hervorzurufen.

Beachtenswert bei diesen Versuchen ist, dass sie nicht nur eine klare Korrelation zwischen Vasektomie und Atherosklerose aufdecken, sondern auch einen deutlichen und experimentell belegten Mechanismus für die Ursache solcher Schädigungen beinhalten (159). Interessant ist auch, dass die Versuche bei einer Tierspezies durchgeführt wurden, die nahe dem Menschen steht.

In dieser Arbeit wurden die Seren von 54 Patienten nach Vasektomie auf das Vorkommen von CIC untersucht. 7 Fällen ergaben eine C1q-Ablenkung, aber nur ein Patient zeigte einen positiven Ausfall des 125J-C1q-Ablenkungstest. Ähnliche Ergebnisse erhielt Tung (152), der bei 129 Patienten Untersuchungen vornahm und nur bei 9 Patienten CIC fand.

4.8. Schlussbetrachtung

- a) Bei 18 von 30 Patienten mit malignen Melanomen konnten zum Teil hohe C1q-Ablenkungen nachgewiesen werden, d. h., dass in ueber 50% der Faelle gehaeuft zirkulierende Immunkomplexe aufgetreten sind.
- b) Bei den Verlaufskontrollen von Patienten mit malignen Melanomen konnte kein Zusammenhang mit dem Verhalten der Immunkomplexe im Serum und dem Verlauf der Krankheit festgestellt werden.
- c) Da bei denselben Patienten mit malignen Melanomen die Seren einmal auf zirkulierende Immunkomplexe und einmal auf Melanomantikoerper untersucht wurden, bot sich die Frage nach Korrelation der beiden Untersuchungsmethoden an. Es konnte keine Korrelation nachgewiesen werden.
- d) Immunkomplexe bei allen Neoplasien, speziell bei MM gewinnen mittlerweile immer mehr an Bedeutung insofern, als sie einen blockierenden Effekt auf die Immunabwehr haben koennen.

Diskutiert werden:

- 1) eine Blockade der T-Zellen-Helferfunktion bei der immunologischen Tumorabwehr
 - 2) eine Aktivierung von Suppressor-T-Lymphozyten durch das Vorhandensein von CIC
- e) Die Frage, ob sich bei Seren von Patienten mit Naevus Sutton vermehrt CIC nachweisen lassen, ist wegen der geringen Fallzahl (=2) nicht zu beantworten.
 - f) Die moegliche Bedeutung von Immunkomplexen beim Naevus Sutton sieht Copeman (29) in der fruehen Abstossungsreaktion eines in Entartung begriffenen Gewebes.
 - g) Bei 54 Patienten nach Vasektomie wurden die Seren auf CIC untersucht. Nur bei einem Patienten fiel der C1q-Ablenkungstest positiv aus. Dieses Ergebniss wird von Tung unterstuetzt, der bei 129 Patienten Untersuchungen vornahm und nur bei 9 Patienten CIC fand.
 - h) Die moegliche Bedeutung von CIC bei Patienten nach Vasektomie besteht darin, dass die CIC eventuell zu Atherosklerose an gewissen Gefaessen fuehren.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurden mit dem 125J-C1q-Ablenkungstest 30 Seren von Patienten mit histologisch gesicherten malignen Melanomen, 54 Seren nach Vasektomie und 2 Seren von Patienten mit Naevus Sutton nach zirkulierenden Immunkomplexen untersucht. 29 Seren der Patienten mit MM zeigten eine C1q-Ablenkung. Dabei waren 18 Seren hochsignifikant positiv. Bei den Patienten nach Vasektomie ergab nur ein Serum ein positives Ergebnis. Die Seren der Patienten mit Naevus Sutton ergaben beide eine C1q-Ablenkung, wobei ein Serum hochsignifikant positiv war. Bei 5 Patienten wurden Verlaufskontrollen vorgenommen. 1, 3 und 8 Wochen nach der operativen Entfernung des Melanoms wurden in den Seren die zirkulierenden Immunkomplexe bestimmt. In zwei Fällen liess sich ein Abfall der zirkulierenden Immunkomplexe feststellen. Ob dies eine Antwort des Immunsystems auf die Reduzierung der Tumormasse darstellt, müsste an grösseren Fallzahlen und ueber einen laengeren Zeitraum kontrolliert werden. Eine einfache Korrelation zwischen dem Immunkomplex-titer und der histologischen Eindringtiefe (Level nach Clark) konnte nicht nachgewiesen werden. Auch zeigte sich keine Beziehung zwischen der Hoehe der C1q-Ablenkung und der Hoehe des Melanomantikoeper-titers. Die im Serum der Patienten mit Naevus Sutton aufgetretenen zirkulierenden Immunkomplexe koennten in enger Anlehnung an die immunologischen Vorgaenge bei malignen Melanomen gesehen werden, wenn man die Hypothese von Copeman in Betracht zieht, der im Naevus Sutton die selten zu beobachtende Interimsphase einer fruehen Abstossungsreaktion sieht, von einem Gewebe, das in Begriff steht zu entarten (29).

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) Agnello, V., Winchester, R. J., Kunkel, H. G.: Precipitin reactions of the C1q component of complexes in gel diffusion. *Immunology* 19, 909 - 912 (1970).
- 2) Ahlstedt, S., Hanson, L. A., Wadsworth, C.: A C1q immunoabsorbant assay compared with thin-layer gel filtration for measuring IgG aggregates. *Scand. J. Immunol.* 5, 293-298 (1976).
- 3) Alexander, N. J., Clarkson, T. B.: *Science* 538-541 (1978).
- 4) Almeida, J. D., Waterson, A. P.: Immune complexes in hepatitis. *Lancet* 1969, p. 983.
- 5) Aziz, S., Cohen, A. H., Winer, R. L., Llach, F., Massry, S. G.: Diabetes mellitus with immune complex glomerulonephritis. *Nephron* 23, 32-37 (1979).
- 6) Baldwin, R. W., Byers, V. S., Robins.: Circulating immune complexes in cancer: Characterization and Potential as Tumor Markers. *Behring Inst. Mitt.* No. 64, 63-77 (1979).
- 7) Barnett, E. V., Knutson, D. W., Abrass, C. K., Chia, D., Young, L. S., Liebling, M. R.: Immune complexes. *VCLA Interdepartmental Clinical Conf. Ann. intern. Med.* (im Druck).
- 8) Benveniste, J., Bruneau, C.: Detection and characterisation of circulating immune complexes by ultracentrifugation. *Technical Aspects. J. Immunol. Methods* 26, 99-112 (1979).
- 9) Border, W. A.: Immune complex detection in glomerular diseases. *Nephron* 24, 105-113 (1979).
- 10) Brandeis, W. E., Hilson, E., Day, N. K.: Circulating immune complexes in patients with neuroblastoma and in neuroblastoma-bearing nude mice. *Eur. J. Pediatr.* 130, 211 (1979).
- 11) Braun-Falco, O., Maennel, C., Scherer, R.: Nachweis von Loeslichen zirkulierenden Immunkomplexen im Serum von Psoriasispatienten mit dem 125J-C1q-Ablenkungstest. *Hautarzt* 28, 658 (1977).
- 12) Broke, D., Delespesse, G., Debisschop, M. J., Bonnyns, M.: Circulating immune complexes in various thyroid diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 36, 379-383 (1979).
- 13) Bronet, J. C., Clanvel, J.-P., Danon, F., Klein, M., Seligman, M.: Biological and clinical significance of cryoglobulins. *Am. J. Med.* 57, 775-788 (1974).
- 14) Brzosko, W. J., Krawczynski, K., Nazarewicz, T., Morzycha, M., Nowolawski, A.: Glomerulonephritis associated with hepatitis B-surface antigen immune complexes in children. *Lancet* 1974, p. 478-482.
- 15) Bullock, W. E., Artz, R. P., Bhathena, D., Tung, S. K.: Association with circulating immune complexes, eosinophilia and mesangiopathic glomerulonephritis. *Arch. Intern. Med.* 139, 700-702 (1979).
- 16) Canevari, S., Fossati, G., Della Porta, G., Balzarini, G. P.: Humoral cytotoxicity in melanoma patients and its correlation with the extent and course of disease. *Int. J. Cancer* 16, 722-729 (1975).

- 17) Capra, J. D., Winchester, R. J., Kunkel, H. G.: Hypergammaglobulinemic purpura. *Medicine* 50, 125-138 (1971).
- 18) Carpentier, N. A., Docquier, C. E., Pugué, P., Lambert, P. H., Miescher, P. A.: Incidence et spécificité des complexes immuns circulants dans la mononucléose infectieuse. *Schweiz. med. Wschr.* 41, 108 (1978).
- 19) Carella, G., Digeon, M., Feldmann, G., Jungers, P., Drouet, J., Bach, J. F.: Detection of hepatitis B antigen in circulating immune complexes in acute and chronic hepatitis. *Scand. J. Immunol.* 6, 129-133 (1977).
- 20) Casalia, P., Bossus, A., Carpentier, N. A., Lambert, P. H.: Solid phase enzyme immunoassay or radioimmunoassay for the detection of immune complexes based on their recognition by conglutinin-binding test. *Clin. Exp. Immunol.* 29, 342-354 (1977).
- 21) Chandra, R. K.: Indian childhood cirrhosis: genealogic data, alphafoeto-protein hepatitis antigen and circulating immune complexes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 70, 296-301 (1976).
- 22) Char, D. H., Christensen, M.: Immune complexes in retinoblastoma. *American J. of Ophthalmology* 86, 395-399 (1978).
- 23) Charlesworth, J. A., Campbell, L. V., Quin, J., Lazarus, L., MacDonald, G. J.: Immune complexes in diabetes mellitus. *Aust. N. Z. J Medicine* 9, 370-373 (1979).
- 24) Clague, R. B., Kumar, S., Hann, I. M., Morris-Jones, P. H., Holt, L. P. J.: Relevance of circulating immune complexes in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Int. J. Cancer* 22, 227-230 (1978).
- 25) Clarkson, T. B., Alexander, N. J.: *J. Clin. Invest.* 65, 15-25 (1980).
- 26) Cochrane, C. G., Koffler, D.: Immune complex disease in experimental animals and man. *Adv. Immunol.* 16, 185-264 (1973).
- 27) Coller, J. A., Millman, J., Halbherr, T. C., Blumberg, B. S.: Radio-immunoprecipitation assay for Australia antigen, antibody and antigen-antibody complexes. *Exp. Biol. and Med.* 138, 249-257 (1971).
- 28) Combes, B., Stastry, P., Shorey, I., Eigenbrodt, E. H., Barrera, A., Hull, A. R., Carter, N. W.: Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody complexes in glomerula basement membrane. *Lancet* 1971iii, p. 234-237.
- 29) Copeman, P. W. M., Lewis, M. G., Phillips, T. M., Elliott, P. G.: Immunological associations of the halo naevus with cutaneous malignant melanoma. *Brit. J. Derm.* 88, 127-137 (1973).
- 30) Cowdery, J. S., Treadwell, P. E., Fritz, R. B.: A radioimmunoassay for human antigen-antibody complexes in clinical material. *J. Immunol.* 114, 5-9 (1975).
- 31) Cream, J. J.: Immune complexes in cryoprecipitates. *Ann. rheum. Dis.* 36, suppl. 1, p. 45 (1977).
- 32) Creighton, D. W., Lambert, P. H., Miescher, P. A.: Detection of antibody complexes by precipitation with polyethylenglycol. *J. Immunol.* 111, 1219-1227 (1973).

- 33) Cunningham-Rundles, C., Brandeis, W. E., Good, R. A., Day, N. K.: Milk precipitins circulating immune complexes, and IgA deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75, 3387-3389 (1978).
- 34) Dixon, F. J.: The role of antigen-antibody complexes in disease. *Harvey Lect.* 58, 21-52 (1963).
- 35) Dixon, F. J., Vasquez, J. J., Weigle, W. O., Cochrane, C. G.: Pathogenesis of serum sickness. *Arch. Pathol.* 65, 18-24 (1958).
- 36) Eberle, G.: Nachweis tumorassoziiierter humoraler Antikörper bei Patienten mit Melanom, Halonaevus und Vitiligo. *Dissertationsarbeit Uni Muenchen* 1980.
- 37) Eisenberg, R. A., Theofilopoulos, A. N., Dixon, F. J.: Use of bovine conglutinin for the assay of immune complexes. *J. Immun.* 118, 1428-1434 (1977).
- 38) Ezer, G., Mayward, A. R.: Inhibition of complement dependent lymphocyte rosette formation: a possible test for activated complement products. *Eur. J. Immunol.* 4, 148-150 (1974).
- 39) Franklin, E. C., Holman, H. R., Mueller-Eberhard, H. J., Kunkel, H. G.: An unusual protein component of high molecular weight in the serum of certain patients with rheumatoid arthritis. *J. Exp. Med.* 105, 425-438 (1957).
- 40) Gabay, R., Zubler, R. H., Nydegger, U. E., Lambert, P. H.: Immune complexes and complement catabolism in ankylosing spondylitis. *Arthritis and Rheumatism* 20, 913-916 (1977).
- 41) Gabriel, A., Agnello, V.: Detection of immune complexes. The use of radioimmunoassays with C1q and monoclonal rheumatoid factor. *J. Clin. Invest.* 59, 990-1001 (1977).
- 42) Gerber, M. A., Samo, E., Vernace, S. J.: Immune complexe in hepatocytic nuclei of HB-Ag-positiv chronic hepatitis. *New Engl. J. Med.* 294, 922-925 (1976).
- 43) Germuth, F. G.: A comparative and immunological study in rabbits of induced hypersensitivity of the serum sickness type. *J. Exp. Med.* 97, 257-263 (1953).
- 44) Germuth, F. G., Flanagan, C., Montenegro, M. R.: The relationship between the chemical nature of the antigen, antigen dosage, rate of antibody synthesis and occurrence of arthritis and glomerulonephritis in experimental hypersensitivity. *Bull. Johns Hopkin's Hosp.* 101, 149-155 (1957).
- 45) Glikmann, G., Svekg, S.-E., Nielson, H.: A solid phase, polyclonal IgM-Rf binding assay for circulating immune complexes. *Acta path. microbiol. scand. Sect.* 87, 121-129 (1979).
- 46) Gluckman, J. C., Jacob, N., Beaufils, H., Baumelou, A., Salak, H., German, A., Legrain, M.: Clinical significance of circulating immune complexe detection in chronic glomerulonephritis. *Nephron* 22, 138-145 (1978).
- 47) Gocke, D. J., Hsu, K., Morgan, C., Bombardieri, S., Lockshin, M., Christian, C. L.: Association between polyarteritis and Australia-antigen. *Lancet* 1970ii, 1149-1153.

- 48) Grangeot, L., Pillot, M. J.: Mise en evidence d'immunocomplexes circulants chez l'homme; precipitation des immunocomplexes par le polyethylene glycol et leur caracterisation par le C1q lie aux immunoglobulines. C. r. hebd. Seanc. Acad. Sci., Paris Ser. D 280, 1201-1203 (1975).
- 49) Guilhou, J.-J., Clot, J., Meynadier, J., Lapinski, H.: Immunological aspects of psoriasis. II. Dissociated impairment of thymus-dependent lymphocytes. Brit. J. Derm. 95, 295-301 (1976).
- 50) Gupta, R. K., Golup, S. H., Morton, D. L.: Correlation between tumor burden and anticomplementary activity in sera from cancer patients. Cancer Immunol. Immunother. 6, 63-71 (1979).
- 51) Haakenstad, A. O., Case, J. B., Mannik, M.: J. Immunol. 114, 1153 (1975)
- 52) Haakenstad AO, Mannik M : The biology of immune complexes. In: Talal N (ed) Autoimmunity. Academic Press, New York, p 277-360 (1977).
- 53) Haellgren, R., Wide, L.: Detection of circulating IgG aggregates and immune complexes using 125J protein A from *Staphylococcus aureus*. Ann. rheum. Dis. 35, 306-313 (1976).
- 54) Halla, J. T., Volanakis, J. E., Schrohenloher, R. E.: Immune complexes in rheumatoid arthritis sera and synovial fluids. Arthritis and Rheumatism 22, 440-448 (1979).
- 55) Halla, J. T., Volanakis, J. E., Schrohenloher, R. E.: Circulating immune complexes in mixed connective tissue disease. Arthritis and Rheumatism 22, 484-489 (1979).
- 56) Havemann, K., Gropp, C., Scheuer, A., Scherfe, T., Gramse, M.: ACTH-Like activity in immune complexes of patients with oat-cell carcinoma of the lung. Br. J. Cancer 39, 43-50 (1979).
- 57) Hay, F. C., Nineham, L. J., Roitt, I. M.: Routine assay for the detection of immune complexes of known immunoglobulin class using solid phase C1q. Clin. Exp. Immunol. 24, 396-400 (1976).
- 58) Hedberg, H.: Studies on depressed haemolytic complement activity of synovial fluid in adult rheumatoid arthritis. Acta Rheumatol. Scand. 9, 165-169 (1963).
- 59) Heier, H. E., Carpenter, N., Lange, G., Lambert, P. H., Godal, T.: Circulating immune complexes in patients with malignant lymphomas and solid tumors. Int. J. Cancer 20, 887-894 (1977).
- 60) Heier, H. E., Landaas, T. O., Matton, P. F.: Circulating immune complexes and prognosis in human malignant lymphoma, a prospective study. Int. J. Cancer 23, 292-298 (1979).
- 61) Heite, H. J.: Erkennung und Bewertung prognostischer Faktoren beim malignen Melanom der Haut. Langenbecks Arch. Chir. 342, (1976).
- 62) Hodgson, H. J. F., Potter, B. J., Jewell, D. P.: Immune complexes in ulcerative colitis and Crohns disease. Clin. Exp. Immunol. 29, 187-196 (1977).
- 63) Houston, K. A., Gupta, R. G., Donadio, J. V., McDuffie, F. C., Ilstrup, D. M.: Circulating immune complexes in systemic lupus erythematosus. J. of Rheumatol. 4, 423-432 (1978).

- 64) Huetteroth, T. H., Arnold, W., Hopf, U., Meyer zum Bueschenfelde, K.-H.: Zirkulierende Immunkomplexe bei akuter Virushepatitis, chronisch-aktiver Hepatitis und Periarteriitis nodosa. (Exemplar, preprint).
- 65) Huetteroth, T. H., Meyer zum Bueschenfelde, K. H.: Detection of circulating immune complexes with a modified Raji-cell technique. *Klin. Wschr.* 55, 899-901 (1977).
- 66) Immune complexes in health and disease. *Lancet* 1977i, p. 580-581 (editorial).
- 67) Jennette, J. C., Feldmann, J. D.: p30-anti-p30 immune complexes: Intravascular clearance and extravascular sequestration in rats bearing moloney sarcoma. *J. Immunol.* 121, 1696-1700 (1978).
- 68) Jewell, D. P., McLennan, J. C. M.: Circulating immune complexes in inflammatory bowel diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 14, 219 (1973).
- 69) Jones, M. B., Osterholm, R. K., Wilson, R. B., Martin, F. H., Commers, J. R., Bachmeyer, J. D.: Fatal pulmonary hypertension and resolving immune complex glomerulonephritis in mixed connective tissue disease. *Am. J. Med.* 65, 855-863 (1978).
- 70) Johnson, A. H., Mowbray, J. F., Porter, K. A.: Detection of circulating immune complexes in pathological humansera. *Lancet*, 762-765 (1975).
- 71) Kaboth, U., Schober, A., Thomssen, R.: Purification of Australia-SH-antigen by acid dissociation of Australia-SH-antigen-antibody complexes *Vox Sang.* 19, 278-279 (1970).
- 72) Kano, K., Nishimaki, T., Loza, U., Kasukawa, K., Milgrom, F.: Detection of circulating immune complexes by inhibition of anti-antibody (AA) (abstr.). *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. exp. Biol.* 36, 1213 (1977).
- 73) Kater, L., Gorp van, L. H. M., Porst-Eilers, E.: Hepatitis: Intra-hepatic expression of Australia antigen and immune complexes in liver tissue. *Vox. Sanguinis*, suppl. 24, 27-32 (1973).
- 74) Katz, F. E., Steward, M. W.: *Immunol.* 29, 543 (1975).
- 75) Kawai, M., Danko, K., Kalmar, E., Frankia, I., Szegedi, G. Y.: Radioassay of soluble immune complexes using their uptake by macrophage Fc-receptors. *Immunology* 32, 617-621 (1977).
- 76) Kohler, P. F.: Clinical immune complexes disease. *Medicine* 52, 419-423 (1973).
- 77) Krafft, T., Peitrequin, R., Frei, P. C.: Comparaison entre la presence de complexes immuns circulants specifiques et le test d'inhibition de la migration dans differtes formes cliniques d'hepatite B. *Schweiz. med. Wschr.* 107, 1759-1763 (1977).
- 78) Kunkel, H. G., Mueller-Eberhard, H. J., Fudenberg, H. H., Tomasi, T. B.: Gammaglobulin complexes in rheumatoid arthritis and certain other conditions. *J. Clin. Invest.* 40, 117-122 (1960).
- 79) Lachmann, P. J.: Conglutinin and immunoconglutinins. *Adv. Immunol.* 6, 479-527 (1967).
- 80) Lambert, P. H., Dixon, F. J., Zubler, R. H., Agnello, V., Cambiaso, C., Casali, P., Clarke, J., Cowdery, J. S., McDuffie, F. C., Hay, F. C., McLennan, I. C., Masson, P., Mueller-Eberhard, H. J., Penttinen, K.,

- Smith, M., Tappeiner, G., Theofilopoulos, A. N., Verroux, P.: A WHO collaborative study for the evaluation of 18 methods for detecting immune complexes in serum. *J. Lab. Clin. Immunol.* (im Druck).
- 81) Laurent, M. R., Panayi, G. S., Alexander, M.: Circulating immune complexes in ankylosing spondylitis. In: *Proceedings of the 26th Colloquium (1978): Protides of the Biological Fluids*, ed. by H. Peeters, Pergamon Press, Oxford and New York (1979), p. 167-170.
- 82) Lehner, T., Almeida, J. D., Levinsky, R. J.: Damaged membrane fragments and immune complexes in the blood of patients with Behcet's syndrome. *Clin. Exp. Immunol.* 34, 206-212 (1978).
- 83) Loughlin, M. G., Taussig, L. M., Murphy, S. A., Strunk, R. C., Kohnen, P. W.: Immune-complex-mediated glomerulonephritis and pulmonary hemorrhage simulating goodpasture syndrome. *J. Pediatr.* 92, 181-184 (1978).
- 84) Lunde, H. Z., Stobbe, G. D.: The natural history of the pigmented naevus: factors of age and anatomic location. *Am. J. Pathol.* 25, 1117-1122 (1949).
- 85) Lurhuma, A. Z., Cambiaso, C. L., Masson, P. L., Heremans, J. F.: Detection of circulating antigen-antibody complexes by their inhibitory effect on the agglutination of IgG-coated particles by rheumatoid factor or C1q. *Clin. Exp. Immunol.* 25, 212-226 (1976).
- 86) Luthra, H. S., McDuffie, F. C., Hunder, G. G., Samayoa, E. A.: Immune complexes in sera and synovial fluids of patients with rheumatoid arthritis. Radioimmunoassay with monoclonal rheumatoid factors. *J. Clin. Invest.* 56, 458-466 (1975).
- 87) Maciejewski, W., Baudmann, H. J.: Immune complex vasculitis in patient with Behcet's syndrome. *Arch. Dermatol. Res.* 264, 253-256 (1979).
- 88) Madalinski, K., Bragiel, I.: HBs-Ag immune complexes in the course of infection with hepatitis B virus. *Clin. Exp. Immunol.* 36, 371-378 (1979).
- 89) Maiini, R. N., Holborow, E. J. (eds.): Detection and measurement of circulating soluble immune complexes. *Ann. rheum. Dis.* 36, suppl., 1 - 64 (1977).
- 90) Mannik, M., Arend, W. P.: Fate and preformed immune complexes in rabbits and rhesus monkeys. *J. Exp. Med.* 134, 19s-31s (1971).
- 91) Martini, G. A., Strohmeyer, G., Sodomann, C.-P.: Die Panartheitis nodosa bei chronischer Hepatitis mit Australia-Antigen-Nachweis. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 97, 642-645 (1972).
- 92) Masson, P. L.: Zirkulierende Antigen-Antikörperkomplexe. *Laboratoriumsblätter*, 28, 89 (1978).
- 93) Masson, P. L., Delire, M., Cambiaso, C. L.: Circulating immune complexes in normal human pregnancy. *Nature* 266, 542 (1977).
- 94) Matl, J., Haskova, V., Kasalik, J.: Circulating immune complexes in renal transpl. patients. *Transplantation* 27, 5 (1979).
- 95) McLennan, I. C. M.: Competition for receptors of immunoglobulins on

cytotoxic lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 10, 275-283 (1972).

- 96) Misgeld, V.: Zur Immunologie des Melanomalignoms. *Der Hautarzt*, 24, 511-519 (1973).
- 97) Mohammed, I., Thompson, B. R., Holborow, E. J.: Radiobioassay for immune complexes using macrophages. *Ann. rheum. Dis.* 36, suppl. 1, pp. 49-54 (1977).
- 98) Morito, T., Tanimoto, K., Hashimoto, Y., Horiuchi, Y., Juji, T.: Fc-rosette inhibition by hypocomplementaemic systemic lupus erythematosus sera. *Ann. rheum. Dis.* 35, 415-421 (1976).
- 99) Morton, D. L.: Immunological studies with human neoplasmas. *J. Reticuloendothelial Soc.* 10, 137-160 (1971).
- 100) Mowbray, J. F., Hoffbrand, A. V., Holborow, E. J., Seah, P. P., Fry, L.: Circulating immune complexes in dermatitis herpetiformis. *Lancet* 1973i, p. 400-402.
- 101) Myllyla, G.: Aggregation of human blood platelets by immune complexes in the sedimentation pattern test. *Scand. J. Haematol.*, suppl. 19, 7-56 (1973).
- 102) Neste van, D., Pierard, G. E., Hermanns, J. F.: Immune complexe disease associated with peroben intake. *Dermatologica* 158, 417-426 (1979).
- 103) Nielsen, H., Svehag, S. E.: Detection and differentiation of immune complexes and IgG aggregates by a complement consumption assay. *Acta path. microbiol. scand. Sect. C* 84, 261-269 (1976).
- 104) Nielson, H., Binder, V., Daugharty, H., Svehag, S.-E.: Circulating immune complexes in ulcerative colitis. *Clin. Exp. Immunol.* 31, 72-91 (1978).
- 105) Nielsen, H., Sorensen, H., Faber, V., Svehag, S.-E.: Circulating immune complexes, complement activation kinetics and serum sickness following treatment with heterologous anti-snake venom globulin. *Scand. J. Immunol.* 7, 25-33 (1978).
- 106) Nowoslawski, A., Krawczynski, K., Brzosko, W. J., Madaliski, K.: Tissue localisation of Australia antigen immune complexes in acute and chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Am. J. of Pathology* 68, 31-50 (1972).
- 107) Nydegger, U. E.: Biologic properties and detection of immune complexes in animal and human pathology. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol* 85, 63 (1979).
- 108) Nydegger, U., Kazatchkine, M.: La detection de complexes immuns solubles. *Nouv. Presse Med.* 8, 203-209 (1979).
- 109) Nydegger, U. E., Lambert, P. H., Gerber, H., Miescher, P. A.: Circulating immune complexes in the serum in systemic lupus erythematosus and carriers of hepatitis B antigen. *J. Clin. Invest.* 54, 297-309 (1974).
- 110) Oldstone, M. B. A.: Virus neutralisation and virus induced immune complex disease. Virus antibody union resulting in immunoprotection or immunologic injury- two sides of the same coin. *Prog. med. Virol.*, vol. 19, pp. 84-119 (1975).
- 111) Onyewotu, I. I., Holborow, E. J., Johnson, G. D.: Detection and radio-

- assay of soluble circulating immune complexes using guinea pig peritoneal exudate cells. *Nature Lond.* 248, 156-159 (1974).
- 112) Panem, S., Ordonez, N. G., Dalton, H., Soltain, K.: Viral immune complexes in systemic lupus erythematosis: C-type viral complex deposition in skin. *J. Investat. Dermatology* 71, 260-262 (1978).
- 113) Panem, S., Ordonez, N. G., Katz, A. I., Spargo, B. H., Kirsten, H. W.: Viral immune complexes in systemic lupus erythematosis. *Lab. Invest.* 39, 413-420 (1978).
- 114) Pascal, R. R., Rollwagen, F. M., Harding, T. A., Schiavone, W. A.: *Cancer Res.* 35, 302 (1975).
- 115) Penttinen, K.: The platelet aggregation test. *Ann. rheum. Dis.* 36, suppl., 55-58 (1977).
- 116) Penner, E., Albin, B., Milgrom, F.: Detection of circulating immune complexes in alcoholic liver diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 34, 28-31 (1978).
- 117) Pernice, W., Sedlacek, H. H.: Antigen-specific detection of soluble immune complexes by a new assay system. *Ztschr. f. Immunitaetsforsch.* 155, 51-55 (1978).
- 118) Pernice, W., Sodomann, C.-P., Seiler, F. R., Sedlacek, H. H.: Antigen-spezifischer Nachweis HBs-Ag-haltiger Immunkomplexe im Verlauf der Serum-Hepatitis. *Allergologie* 3, 182 (1978).
- 119) Pernice, W., Sodomann, C.-P., Lueben, G., Seiler, F. R., Sedlacek, H. H.: Antigen-specific detection of HBs-Ag-containing immune complexes in the course of hepatitis B virus infection. *Clin. Exp. Immunol.* 37, 376-380 (1979).
- 120) Prince, A. M., Trepo, C.: Role of immune complexes SH-antigen in pathogenesis of chronic active hepatitis and polyarteritis nodosa. *Lancet* 1971, p. 1309-1312.
- 121) Richman, A. V., Alexander, R. W.: Immunity to cell surface antigens and immune complex glomerulonephritis in hamsters bearing human epithelial tumors. *Cancer Research* 39, 459-464 (1979).
- 122) Rijn van de, J., Fillit, H., Brandeis, W. E., Reid, H., Poon-king, T., McCarty, M., Day, N. K., Zabraskie, J. B.: Serial studies on circulating immune complexes in post streptococcal sequelae. *Clin. Exp. Immunol.* 24, 318-325 (1978).
- 123) Ristow, S. S., Rossen, R. D., Fryd, D. S., McKhann, C. F.: Circulating immune complexes in colon cancer patient sera. *Cancer* 43, 4-8 (1979).
- 124) Roberts-Thomson, P. J., Hazleman, B. L., Barnett, I. G., McLennan, J. C. M., Movat, A. G.: Factors relating to circulating immune complexes in rheumatoid arthritis. (Persoenliche Mitteilung, preprint).
- 125) Roda, L., Maiolini, R., Ferrua, B., Masseyeff, R.: An enzyme-immunoassay method for detecting circulating immune complexes by inhibition of polyclonal rheumatoid factor. *J. Immunol. Meth.* 29, 207-220 (1970).
- 126) Roenigk, H. H., Deodhar, S. D., Krebs, J. A., Barna, B.: Microcytotoxicity and serum blocking factors in malignant melanoma and halo naevus. *Arch. Derm.* 111, 720-725 (1975).

- 127) Rother, U.: Immunologische Diagnostik bei Nierenerkrankungen. Nachweis und klinische Bedeutung von zirkulierenden Immunkomplexen, C3-Nephritis Faktor und Verdrängung des Komplementsystems. Lab. med. 2, 140 (1978).
- 128) Ruddy, S., Carpenter, C. K., Chin, K. W., Knostman, J. N., Soter, N. A., Goetze, O., Mueller-Eberhard, H. J., Ansten, K. F.: Human complement metabolisms an analysis of 144 studies. Medicine 54, 165-178 (1975).
- 129) Sanderson, K. V.: Melanocytic naevi. In: Textbook of Dermatology. Rock, A. J., Wilkinson, D. S., Ebling, F. J. G. eds. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 101-111 (1968).
- 130) Scherer, R., Wolff, H. H.: Vasculitis allergica. Allergology, Jahrgang 2, Nr. 2 / S. 62-71 (1979).
- 131) Schimming, Inaugural-Dissertation, LMU-Muenchen, 1980.
- 132) Schur, P. H.: Immune complexe assays: the state of the art. New Engl. J. Med. 298, 161-162 (1978).
- 133) Sedlacek, H. H.: Pathophysiologocal aspects of immune complex disease (zur Veroeffentlichung eingereicht).
- 134) Sedlacek, H. H., Dersjant, H., Baunder, S., Seiler, F. R.: Critical evaluation of the value of immunofluorescence methods for the demonstration of immunoglobulins on the lymphocyte surface. Behring Inst. Mitt. 59, 38 (1976).
- 135) Semkow, R., Wilczynski, J.: Detection and tissue localisation of components of the immune complex in animals infected and immunized with influenza virus. Acta virol. 23, 52-58 (1979).
- 136) Smith, M. D., Barrat, T. M., Hayward, A. R., Soothill, J. F.: The inhibition of complement-dependent lymphocyte rosette formation by the sera of children with steroid-sensitive nephrotic syndrome and other renal diseases. Clin. Exp. Immunol. 21, 236-243 (1975).
- 137) Sobel, A. T., Bokish, V. A., Mueller-Eberhard, H. J.: C1q-deviation test for the detection of immune complexes, aggregate of IgG and bacterial products in human serum. J. Exp. Med. 142, 139-150 (1975).
- 138) Sodomann, C.-P.: Humorale und zellulaere Immunphaenomene bei akuter Virushepatitis. Leber Magen Darm 5, 123-131 (1975).
- 139) Sodomann, C.-P., Prokein, K., Schmidt, H., Martini, G. A.: Zierku-lierende Immunkomplexe bei Lebererkrankungen. Zeitschr. Gastroenterol. 8, 501-511 (1978).
- 140) Sodomann, C.-P., Schmidt, H., Havemann, K.: Zirkulierende Immunkom-plexe bei Patienten mit malignen Lymphomen. Blut 38, 435-446 (1979).
- 141) Soothill, J. F., Steward, M. W.: Clin. Exp. Immunol. 9, 193 (1971).
- 142) Stanworth, D. R., Johns, P.: Ultracentrifugal methods of detecting soluble immune complexes. Am. rheum. Dis. 36, (suppl.), 12-16 (1977).
- 143) Steffelaar, W., ten Kate, F. J. W., Nap, M., Swaak, A. G. J., Graaff-Reitsma, C., Elven, E. H., Feltkamp-Vroom, T. M.: Immune complex detection by immunfluorescenc on polymorphonuclear leukocytes. Clin. Exp. Immunol. 27, 391-396 (1977).
- 144) Tachovsky, T. G., Lisak, R. P., Koprowski, H., Theofilopoulos, A. N.,

- Dixon, F. J.: Circulating immune complexes in multiple sclerosis and other neurological diseases. *Lancet* 1976ii, p. 977-999.
- 145) Takekoshi, Y., Tanaka, M., Shida, N., Satake, Y., Sakehi, Y., Matsumoto, S.: Strong association between membranous nephropathy and hepatitis B-surface antigenaemia in Japanese children. *Lancet* 1978ii, p. 1065-1068.
- 146) Teshima, H., Wanebo, H., Piniski, C., Noorbibi, K. D.: Circulating immune complexes detected by 125I-C1q-deviation test in sera of cancer patients. *J. Clin. Invest.* 59, 1134-1142 (1977).
- 147) Teuscher, C., Donaldson, D. M.: The deposition and formation of immune complexes in collagenous tissues. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 13, 56-66 (1979).
- 148) Theofilopoulos, A. N., Andrews, B. S., Urist, M. M., Morton, D. L., Dixon, F. J.: The nature of immune complexes in human cancer sera. *J. Immunol.* 119, 657-663 (1977).
- 149) Theofilopoulos, A. N., Wilson, C. B., Bokish, V. A., Dixon, F. J.: Binding of soluble immune complexes to human lymphoblastoid cells. *J. Exp. Med.* 140, 1230-1237 (1974).
- 150) Theofilopoulos, A. N., Wilson, C. B., Dixon, F. J.: The Raji-cell radio immune assay for detecting immune complexes in human sera. *J. Clin. Invest.* 57, 169-182 (1976).
- 151) Tucker, D. F., Begent, R. H. J., Hogg, N. M.: Characterization in immune complexes in serum by absorption on staphylococcal protein A. Model studies and application to sera of rats bearing a Gross virus-induced lymphoma. *J. of Immunol.* 5, 121-128 (1978).
- 152) Tung, K. S. K., Bryson, R. K., Mu, J. C.: Circulating immune complexes in vasectomy. *Biol. of Reprod.* 18, suppl. 1 (1978).
- 153) Vierucci, A., Blumberg, B. S., Marganti, G.: Co-occurrence of Australia Ag and anti-Australia antibodies in transfused patients. *Vox Sang.* 19, 425-431 (1970).
- 154) Vincent, C., Fortier, M., Revillard, J. P., Traeger, J.: Circulating immune complexes in renal transplanted patients. *Transplantation Proceedings* 9, 2 (1979).
- 155) Wagner, O., Mannik, M.: Detection and relevance of circulating immune complexes. In: *Progress in Immunology II. Proc. 3rd Int. Congr. Immunology, Sydney 1977*, pp. 776-778. Australian Academy of Science POB 783, Canberra City 2601.
- 156) Wadsworth, C.: Quantitative thin-layer gel filtration applied to gammaglobulin preparations. *Scand. Immunol.* 3, 533-543 (1974).
- 157) Wadsworth, C.: Human serum standards and sera from patients with immune complex disease characterised with regard to immunoglobulins G, A and M. *Scand. J. Immunol.* 6, 761 (1977).
- 158) Wands, J. R., Mann, E., Alpert, E., Isselbacher, K. J.: The pathogenesis of arthritis associated with acute hepatitis B-surface antigen positive hepatitis. *J. Clin. Invest.* 55, 930-936 (1975).
- 159) Wegemann, T. G.: Vasectomy, antibodies to sperm, and atherosclerosis. *Immunol.* (1980).

- 160) Weigle, W. O.: Fate and biological action of antigen-antibody complexes. *Adv. immunol.* 1, 283-317 (1961).
- 161) West, C. D., Duley, E. J., Forristal, J., Davis, N. C.: Mechanisms of hypocomplementemia in glomerulonephritis. *Kidney int.* 3, 116-125 (1973).
- 162) Williams, B. D., Slaney, J. M.: Macromolecular C3: an indirect marker of circulating immune complexes. *Ann. rheum. Dis.* 36 (suppl.), p. 37-39 (1977).
- 163) Winchester, R. J., Kunkel, H. G., Agnello, V.: Occurrence of gammaglobulin in complexes in serum and joint fluid of rheumatoid arthritis patients. Use of monoclonal rheumatoid factors as reagents for their demonstration. *J. Exp. Med.* 134, 286-295 (1971).
- 164) Wolff, H. H.: Erythema elevatum diutinum. *Arch. Dermatol.* 261, 17-26 (1978).
- 165) Woodroffe, A. J., Border, W. A., Theofilopoulos, A. N., Goetze, O., Glasscock, R. J., Dixon, F. J., Wilson, C. B.: Detection of circulating immune complexes in patients with glomerulonephritis. *Kidney int.* 12, 268-278 (1977).
- 166) Yanase, K., Imamura, S.: Defection of circulating immune complexes in some skin diseases by platelet aggregation test. *Brit. J. of Dermatol.* 100, 227-228 (1979).
- 167) Zubler, R. H., Lambert, P. H.: Detection of immune complexes in human diseases. *Prog. Allergy* 24, 1 (1978).
- 168) Zubler, R. H., Lambert, P.-H.: The 125J-C1q binding test for the detection of soluble immune complexes; in Bloom and David *In vitro methods in cell-mediated and tumor immunity*, pp. 565-572 (Academic Press, New York 1976).
- 169) Zubler, R. H., Lange, G., Lambert, P.-H., Mischer, P. A.: Detection of immune complexes in unheated sera by a modified 125J-C1q binding test. Effect of heating on binding of C1q by immune complexes and application of the test to systemic lupus erythematosus. *J. immunol.* 116, 232-235 (1976).
- 170) Zubler, R. H., Perrin, L. H., Creighton, W. D., Lambert, P.-H.: The use of polyethylene glycol to concentrate immune complexes from serum or plasma samples. *Ann. rheum. Dis.* 36, suppl. 1, pp. 23-26 (1977). 6

Literaturnachtrag

- 171) Balabanov, K., Andreev, V. C., Tchernozemski, I.: Malignant melanoma and vitiligo. *Dermatologica*, 139, 211-219 (1968).
- 172) Bansal, S. C., Sjogren, H. O.: Unblocking serum activity in vitro in the polyoma system may correlate with antitumor effects of anti-serum in vivo. *Nature New Biol.* 223, 76-78 (1971).
- 173) Bloom, E. T.: Quantitative detection of cytotoxic antibodies against tumor specific antigens of murine sarcomas induced by 3-methylcholanthrene. *J. nat. Cancer Inst.* 45, 443-453 (1970).
- 174) Bystrn, J.-C., Smalley, T.: Identification and solubilisation of iodinated cell surface human melanoma associated antigens. *Int. J.*

Cancer, 20, 1965-1972 (1977).

- 175) Cohen, A. M., Miller, R. C., Ketcham, A. S.: A microassay for cytotoxic antibody using ^{125}I -iododeoxyuridine labelled target cells. Transplantation, 12, 31-34 (1972).
- 176) Eilber, F. R., Donald, I., Morton, D. L.: Impaired immunologic reactivity and recurrence following cancer surgery. Cancer, 25, 362-367 (1970).
- 177) Foley, E. J.: Antigenic properties of methylcholanthrene-induced tumors in mice of strain of origin. Cancer Res. 13, 835-839 (1953).
- 178) Haskova, V., Kaslik, J., Riha, I., Matl, I., Rovensky, J.: Simple method of circulating immune complexes detection in sera by polyethylene glycol precipitation. Z. Immun.-Forsch. 154, 399-406 (1978).
- 179) Hellstroem, I., Hellstroem, K. E., Evans, C. A., Heppner, G. H., Pierce, G. E., Yang, J. P. S.: Serum-mediated protection of neoplastic cells from inhibition by lymphocytes immune to their tumor specific antigens. Biology 62, 362-368 (1969).
- 180) Hellstroem, I., Hellstroem, K. E., Sjoegren, H. O., Warner, G. A.: Serum factors in tumor-free patients cancelling the blocking of cell-mediated tumor immunity. Int. J. Cancer 8, 185-191 (1971).
- 181) Helmke, K., Sodomann, C.-P., Teuber, J., Federlin, K.: Nachweis zirkulierender Immunkomplexe mit der Laser-Nephelometrie. Immunitaet und Infektion 6, 173-179 (1978).
- 182) Hoeffken, K., Bestek, U., Sperber, U., Schmidt, C. G.: Quantitation of immune complexes by nephelometry. J. Immunol. Methods 29, 237-244 (1979).
- 183) Kaliss, N.: Immunological enhancement of tumor homografts in mice. a review. Cancer Res. 18, 982-1003 (1958).
- 184) Keller, R.: Immunologie und Immunpathologie, Eine Einfuehrung, Thieme-Verlag, 1. Auflage, Stuttgart 1977
- 185) Klein, G.: Tumor antigens. Ann. Rev. of Microbiology, 20, 223-252 (1966).
- 186) Kopf, A. W., Morrill, S. D., Silberberg, I.: Broad spectrum of Leukoderma acquisitum centrifugum. Arch. Derm. 92, 14-35 (1965).
- 187) Lewis, M. G., Ikonopisov, R. L., Nairn, R. C., Phillips, T. M., Hamilton Fairley, G., Bodenham, D. C., Alexander, P.: Tumor-specific antibodies in human malignant melanoma and their relationship to the extent of the disease. Brit. Med. J. 3, 547-552 (1969).
- 187a) McIntire, K. R.: Tumor Markers for Radioimmunodetection of Cancer Cancer Reserch 40. 3083-3085. August 1980.
- 188) Moeller, G.: Demostration of mouse isoantigens at the cellular level by the fluorescent antibody technique. J. Exp. Med. 114, 415-434 (1961).
- 189) Peterson, R. D. A., Kelly, W. D., Good, R. A.: Ataxia telangiectasia Its association with a defective thymus, immunologic deficiency disease and malignancy. Lancet 1, 1189-1193

- 190) Prehn, R. T., Main, J. M.: Immunity to methycholanthrene-induced sarcomas. J. Nat. Cancer Inst. 18, 769-773 (1957).
- 191) Riha, I., Haskova, V., Kaslik, J., Maierava, M., Stransky, J.: The use of polyethylene glycol for immune complex detection in human sera. Molecular Immunology 16, 489-493 (1978).
- 192) Sedlacek, H.H., Pernice, W., Seiler, F. R.: Probleme beim Nachweis von Immunkomplexen. Internist 21, 220-226 (1980).
- 193) Sjoegren, H. O., Hellstroem, I., Bansal, S. C., Hellstroem, K. E.: Suggestive evidence that the blocking antibodies of tumor-bearing individuals may be antigen-antibody complexes. Proc. Nat. Acad. Sci. 68, 1372-1375 (1971).
- 194) Sodomann, C.-P., Prokein, K. G., Schmidt, R.: Nachweis zirkulierender Immunkomplexe: Methoden, Fehlerquellen, Bedeutung. Wissenschaft und Fortbildung 4, 121 (1980).
- 195) Stegmaier, O. C.: Natural regression of melanocytic naevus. J. Invest Derm. 32, 413-420 (1959).
- 196) Stegmaier, O. C., Becker, S. W., Medenica, M.: Multiple halo naevi. Histopathological findings in a 14-year-old boy. Arch. Derm. 99, 180-187 (1969).
- 197) Sumner, W. C., Foraker, A. G.: Spontaneous regression of human melanoma. Cancer 13, 79-81 (1960).
- 198) Takasugi, M., Terasaki, P. I.: Detction of HL-A and other cell-surface antigens on cultured cells by a cytotoxic plating inhibition test. J. Nat. Cancer Inst. 49, 1229-1237 (1972).
- 198a) The, T. H., Van Wingerden, I.: Immune complexes in peripheral blood polymorphonuclear leucocytes of malignant melanoma patients. Clin. exp. Immunol. 32, 387-391 (1978).
- 199) Tympner, K.-D., Neuhaus, F.: Immunmangel bei Kindern. Urban und Schwarzenberg, Muenchen 1976
- 200) Virella, G., Hipp, W. A., John, J. F., Kahaleh, B., Ford, M., Fudenberg, H. H.: Nephelometric detection of soluble immune complexes. Methodology and Clinical applications. Int. Arch. Allergy appl. Immun. 58, 402-410 (1979).
- 201) Yust, I., Wunderlich, J. R., Mann, D. L., Buell, D. N.: Cytotoxicity mediated by human lymphocyte-dependent antibody in a rapid assay with adherent target cells. J. Immunol. 110, 1672-1681 (1973).

Für die freundliche Überlassung des Themas
und die fortwährende Unterstützung danke
ich Herrn Prof. Dr. med. B.-R. Balda und
Herrn Privatdozent Dr. R. Scherer.

Vielen Dank auch meinem Schwager
K. Buschmann für die freundliche Unterstützung
bei der Druckaufbereitung.

T a b e l l a r i s c h e r L e b e n s l a u f

I. P E R S O N A L I E N

Name:	Faschingbauer
Vorname:	Maximilian Johann
Geburtsdatum:	14. 07. 1954
Geburtsort:	Essen
Familienstand:	ledig
Anschrift:	Boehmerwaldstr. 13 8057 Eching
Beruf:	Arzt

II. S C H U L B I L D U N G

1961 - 1965	Volksschule, Essen-Schonnebeck
1965 - 1971	Humboldt-Gymnasium, Essen
1971 - 1974	Thomas-Mann-Gymnasium, Muenchen
22. 06. 1974	Abitur

III. B E R U F L I C H E A U S - u n d
 W E I T E R B I L D U N G

1974 - 1975	Studium Physik, LMU-Muenchen
1975 - 1980	Studium H-Medizin, LMU-Muenchen
16. 10. 1980	Beendigung des Studiums mit Bestehen des 3. Aschnitts der aerztlichen Pruefung
06. 01. 1981	Einberufung als Stabsarzt zur Bundeswehr

